Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J.R. Bierich

Vergleichende Untersuchungen der Enzymaktivitäten in Pankreasenzympräparaten des deutschen Marktes

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Manfred Molitor
aus Empfingen

1983

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J.R. Bierich

Vergleichende Untersuchungen der Enzymaktivitäten in Pankreasenzympräparaten des deutschen Marktes

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Manfred Molitor
aus Empfingen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. K.H. Niessen
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. H. Malchow

Die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden mir in der Universitätskinderklinik Tübingen ermöglicht, wofür ich deren Direktor, Herrn Professor Dr. med. J.R. Bierich, dankbar bin.

Herrn Professor Dr. med. K.H. Niessen möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die stets gewährte freundliche Unterstützung bei deren Durchführung danken.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0063

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	2
2. Material, Geräte und Methoden	4
2.1. Material	4
2.2. Geräte	5
2.3. Methodik	6
2.3.1. Lösen der Medikamente	6
2.3.2. Bestimmung der proteolytischen Aktivität	6
2.3.3. Bestimmung der amyloklastischen Aktivität	9
2.3.4. Bestimmung der lipolytischen Aktivität	11
2.3.5. Bestimmung des Proteingehaltes der Medikamente	14
3. Ergebnisse	
3.1. Vorversuche	16
3.1.1. Aktivierung der Proenzyme mit proteolytischer Aktivität durch Enterokinase	16
3.2. Eichkurven	17
3.2.1. Trypsin-Eichkurve	17
3.2.2. Maltose-Eichkurve	20
3.2.3. Palmitinsäure-Eichkurve	22
3.2.4. Albumin-Eichkurve	24
3.3. Enzymbestimmungen	26
3.3.1. Allgemeines	26
3.3.2. Proteolytische Aktivität	27
3.3.3. Amyloklastische Aktivität	41
3.3.4. Lipolytische Aktivität	51
3.3.5. Proteinbestimmung	59
4. Diskussion	62
5. Zusammenfassung	73
Literatur	74

1. Einleitung

Das Pankreas besteht aus einem exokrinen und einem endokrinen Anteil. Letzterer produziert die Hormone Insulin und Glukagon, während die exokrinen Pankreaszellen Enzyme bilden, die im Darm höhermolekulare Nahrungsstoffe zu kleineren, leicht resorbierbaren Bruchstücken abbauen. Amylase und Lipase werden als aktive Enzyme in den Darm ausgeschieden, die Proteasen Trypsinogen, Chymotrypsinogen und Pro-Carboxypeptidase hingegen als inaktive Vorstufen sezerniert, die im Duodenum aktiviert werden müssen.

Liegt eine Pankreasinsuffizienz vor, so kann der Mangel an den Enzymen α-Amylase, Lipase sowie den Proteasen Trypsin, Chymotrypsin und Carboxypeptidase-A bzw. -B partiell substituiert werden, damit die Symptome eines Malabsorptionssyndromes gemindert werden. Dazu bietet die pharmazeutische Industrie eine große Anzahl von Pankreasenzympräparaten an.

Bereits 1954 meinte Balzer, daß für eine wirksame Substitutionstherapie nur solche Präparate brauchbar sind, die einen möglichst hohen Gehalt an Pankreasfermenten aufweisen. Deshalb sei es von praktischem Wert, durch eine vergleichende Aktivitätsbestimmung diejenige Fermentpräparate zu ermitteln, welche die obige Voraussetzung gewährleisten (3). Zu diesem Thema wurden dann auch in den letzten 30 Jahren immer wieder Arbeiten publiziert (17,3, 26,4,6,19). Eine erneute vergleichende Untersuchung erschien notwendig, da viele Präparate in jüngster Zeit in ihrer Zusammensetzung und Wirksamkeit geändert wurden. Außerdem geben zahlreiche pharmazeutische Firmen neuerdings den Enzymgehalt in Einheiten an, die nach Empfehlungen der F.I.P.

(Fédération Internationale Pharmaceutique) bestimmt wurden (11).

Um den physiologischen Gegebenheiten möglichst nahezukommen, wurden bei dieser Arbeit nur natürliche Substrate verwendet. Mit der Wahl von Stärke als Substrat für die amyloklastische Aktivität, Casein als Substrat für die proteolytische Aktivität und Olivenöl als Substrat für die lipolytische Aktivität konnten sowohl die Richtlinien der F.I.P. als auch die Zielvorstellung von natürlichen Substraten erfüllt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden 27 verschiedene Substitutionspräparate auf ihre potentielle Wirksamkeit untersucht und hinsichtlich der absoluten Aktivität pro Tablette, Dragée bzw. Kapsel miteinander verglichen. Erstmalig wurde auch die spezifische Aktivität dieser Präparate bestimmt.

2. Material, Geräte und Methoden

2.1. Material

Zur Herstellung der Reagenzien wurden folgende Substanzen verwendet:

2.1.1. Proteolytische Aktivität:

Trypsin, 180 EU/mg	Fa. Serva Art-Nr. 37260
Trypsin from bovine pancreas Typ III, activity 10200 BAEE units/mg protein, Charge-Nr. 79C-8015	Fa. Sigma Art-Nr. T-8253
Enterokinase from porcine intestine, 10,3 units/mg protein, Charge-Nr. 89C-0481	Fa. Sigma Art-Nr. E-8128
Casein nach Hammarsten Charge-Nr. 8543048	Fa. Merck Art-Nr. 2242

2.1.2. Amyloklastische Aktivität:

α-Amylase from porcine-pancreas, Typ I-A, 550 units/mg protein/ml Charge-Nr. 87C-83251	Fa. Sigma Art-Nr. A-6255
Stärke, löslich nach Zulkowsky Charge-Nr. 0095649	Fa. Merck Art-Nr. 1257
D-Maltose, reinst	Fa. Serva Art-Nr. 28390

2.1.3. Lipolytische Aktivität:

Lipase from wheat germ, Typ I 9 units/mg protein Charge-Nr. 38C-8170	Fa. Sigma Art-Nr. L-3001

Olive oil, highly refined, low acidity, Charge-Nr. 116C-00341	Fa. Sigma Art-Nr. O-1500
Palmitinsäure	Fa. Serva Art-Nr. 31389

2.1.4. Proteinbestimmung

Albumin, bovine Charge-Nr. 108C-8050	Fa. Sigma Art-Nr. A-1009
Folin-Ciocalteus-Phenol-reagens, Charge-Nr. 9635588	Fa. Merck Art-Nr. 9001

Alle übrigen Reagenzien wurden als p.a.-Substanzen eingesetzt.

2.2. Geräte

Bei der Ausführung der Versuche wurden folgende Geräte und sonstige Hilfsmittel benutzt:

Whirl-Mix	Fa. Bachofer, Nr. 34524-20
Ultra-Thermostat	Fa. Köttermann, Typ NBD
Magnetrührer	Typ IKA-Combimag-RCH
Zeiss-Spektralphotometer PMQ II mit QS-Quarzküvetten	Fa. Zeiss
Labofuge I, 4500 U/min	Fa. Heraeus Christ GmbH
Eppendorf-Photometer: Enzym-Meßplatz 5086 mit Kompen-sationsschreiber 6511	Fa. Eppendorf Gerätebau
Digital pH-Meter CG 801	Fa. Schott
Köttermann Schüttelwasserbad 3047	Fa. Köttermann
Stabmixer: Topmix (3 Gänge)	Fa. Krups
Reagenzglas-Rotator	Fa. Hoffmann

Parafilm	Fa. Dixie/Marathon
Elektrisch beheizbarer Aluminiumblock	Fa. Liebisch, Typ CHL 35

2.3. Methodik

2.3.1. Lösen der Medikamente

Die Dragiermasse bzw. Umhüllung der handelsüblichen Fermentdragées wurde in Puffer (pH 9) abgelöst. Die Dragée-Kerne wurden mit Filterpapier abgetrocknet und im kalten Luftstrom nachgetrocknet. Kapseln wurden mechanisch eröffnet und der Kapselinhalt wie unten beschrieben weiterverarbeitet.
Nach dem Wiegen der Präparate, die jetzt als Dragée-Kerne, Tabletten, Granula und Pulver vorlagen, wurde jeweils eine Tablette bzw. der Inhalt einer Kapsel im Mörser fein zerrieben. Von dem sehr feinen Pulver wurde jeweils diejenige Menge abgewogen, die zur Herstellung einer 0,01%igen bzw. 0,016%igen Lösung (w/v) notwendig war. Als Lösungsmittel diente 0,9%ige NaCl, in dem die Substanzen 15 Minuten lang auf einem Magnetrührer und anschließend mit einem Whirl-Mix 10 Minuten bearbeitet und in Lösung gebracht wurden.

2.3.2. Bestimmung der proteolytischen Aktivität nach Rick (20)

2.3.2.1. Prinzip der Methode

Bei der Spaltung von Casein durch Trypsin oder Chymotrypsin entstehen in Trichloressigsäure lösliche Bruchstücke, deren Tyrosin- und Tryptophan-Gehalt durch Messung der Extinktion bei 280 nm bestimmt wird. Das pH-Optimum dieser Reaktion liegt zwischen 7,0 und 8,0.

2.3.2.2. Herstellung der Lösungen

2.3.2.2.1. Phosphatpuffer (0,1 M, pH=7,6)

0,157 g KH_2PO_4 und 1,575 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ in etwa 90 ml bidest. Wasser lösen, pH-Wert mit der Glaselektrode auf 7,6 einstellen; mit bidest. Wasser auf 100 ml auffüllen.

2.3.2.2.2. Substratlösung

1,0 g Casein in 100 ml Phosphatpuffer aufschwemmen, etwa 15 min. im siedenden Wasserbad erhitzen, bis das Casein vollständig gelöst ist. Mit bidest. Wasser ad 100 ml auffüllen.

2.3.2.2.3. 5%ige Trichloressigsäure

25 g Trichloressigsäure in 1000 ml bidest. Wasser lösen.

2.3.2.3. Arbeitsweise

2.3.2.3.1. Bestimmungsansatz

Meßstrahlung: 280 nm am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II; Quarzküvette, Spaltbreite 0,2 mm, Schichtdicke: 1 cm, Inkubationstemperatur: 35°C; Inkubationsvolumen 2 ml; Messung gegen Wasser. Substratlösung mindestens 5 min. bei 35°C vorgewärmt.

In spitze Zentrifugengläschen pipettieren:	Hauptwert	Leerwert
Enzymlösung	1,0 ml	------
vorgewärmte Substratlösung	1,0 ml	1,0 ml

mischen, gleichzeitig Stoppuhr drücken, genau 20 min. inkubieren.

	Hauptwert	Leerwert
5%ige Trichloressigsäure	3,0 ml	3,0 ml
Enzymlösung	------	1,0 ml

zufügen und gut mischen, mindestens 30 min. bei Raumtemperatur stehen lassen, 20 min. bei 4500 U/min. zentrifugieren. Extinktionen der Überstände bei 280 nm messen.

2.3.2.3.2. Berechnung

Die durch Abzug des Leerwertes korrigierte Extinktion dient zur Berechnung der Enzymaktivität. Da die Extinktion der Spaltprodukte des Caseins nicht linear proportional der eingesetzten Enzymmenge ist, muß auf die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion extrapoliert werden. Deshalb werden mehrere Ansätze mit verschiedenen Probemengen (1 - 25 µg Trypsin) inkubiert. Extinktionen gegen µg Enzym/ml Inkubationsansatz auftragen. An den Anfangsteil der Kurve die Tangente zeichnen, deren Neigung ein Maß für die spezifische Aktivität des Präparates ist.
Nach K u n i t z (14) ist eine Einheit (TU^{cas}) diejenige Trypsinmenge, die unter den beschriebenen Bedingungen soviel trichloressigsäure-lösliche Bruchstücke freisetzt, daß die Extinktion bei 280 nm in 1 min. um 1,000 ansteigt.

2.3.2.4. Spezifität der Methode

Werden Mischungen von Proteasen, z.B. Trypsin und Chymotrypsin analysiert, so werden durch beide Enzyme gleichzeitig trichloressigsäure-lösliche Peptide freigesetzt. Es läßt sich somit nur die gesamte proteolytische Aktivität bestimmen.

2.3.3. Bestimmung der amyloklastischen Aktivität nach Rick und Stegbauer (21)

2.3.3.1. Prinzip der Methode

Stärke wurd durch α-Amylase zu Bruchstücken hydrolysiert, deren reduzierende Hemiacetalgruppen mit 3,5-Dinitrosalicylsäure bestimmt werden. Die Konzentration der entstandenen Nitroaminosalicylsäure wird photometrisch gemessen; sie entspricht den neugebildeten Endgruppen und damit direkt der Enzymaktivität.

2.3.3.2. Herstellung der Lösungen

2.3.3.2.1. Phosphatpuffer (20mM, pH=6,9)

1,97 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ und 1,23 g KH_2PO_4 in ca. 800 ml bidest. Wasser lösen, 65 ml 0,9%ige NaCl-Lösung zugeben, mit 0,1 N NaOH auf pH=6,9 einstellen, mit bidest. Wasser ad 1000 ml auffüllen.

2.3.3.2.2. Stärkelösung (1% w/v)

1,0 g Stärke in Phosphatpuffer ad 100 ml lösen.

2.3.3.2.3. Dinitrosalicylsäurereagens (1% w/v)

10 g 3,5-Dinitrosalicylsäure in ca. 300 ml bidest. Wasser und 400 ml 1 N NaOH lösen, 300 g Kalium-Natrium-Tartrat zugeben und unter Erwärmen lösen, mit bidest. Wasser ad 1000 ml auffüllen.

2.3.3.2.4. Maltose-Standardlösung

Wassergehalt der D(+)-Maltose bestimmen (siehe 3.2.2.4.); 100,0 mg Maltose in bidest. Wasser ad 100 ml lösen. Konzentration (ca. 2,5 mM) unter Berücksichtigung des Wassergehalts berechnen.

2.3.3.3. Arbeitsweise

2.3.3.3.1. Bestimmungsansatz

Meßstrahlung: Hg 546 nm am Eppendorf-Meßplatz 5086; Schichtdicke: 1 cm; Spalt: 1x6 mm; Volumen des Inkubationsansatzes 2,05 ml; Inkubationstemperatur: 25°C; Volumen der Meßlösung: 4,05 ml. Messung gegen Wasser. Substratlösung vor Versuchsbeginn auf 25°C bringen.

In spitze Zentrifugengläschen pipettieren:	Hauptwert	Leerwert
Puffer	1,00 ml	1,00 ml
Enzymlösung	0,05 ml	----
Substratlösung	1,00 ml	1,00 ml

mischen, gleichzeitig Stoppuhr drücken, genau 10 min. inkubieren.

Dinitrosalicylsäurereagens	2,00 ml	2,00 ml
Enzymlösung	----	0,05 ml

zufügen und mischen, Gläschen mit Parafilm verschließen,und 5 min. in einem auf 100°C beheizten Alublock erhitzen. Im Eiswasserbad abkühlen und nach 60 min. Extinktionen messen.

2.3.3.3.2. Maltose-Eichkurve

In spitzen Zentrifugenröhrchen 0,2 - 1,0 ml Maltose-Standardlösung mit bidest. Wasser ansetzen. Zu allen Röhrchen 1,0 ml Substratlösung und 2,0 ml Dinitrosalicylsäurereagens zugeben, gut mischen, Gläschen mit Parafilm verschließen und 5 min. im Alublock (100°C) erhitzen. Anschließend in Eiswasser abkühlen und Extinktionen der Ansätze nach 60 min. gegen bidest. Wasser messen. Extinktionen gegen µMol Maltose pro Ansatz auftragen.

2.3.3.3.3. Spezifität der Methode

Im menschlichen Organismus kommen β-Amylase und Glucoamylase nicht vor, so daß Störungen durch diese Enzyme nicht auftreten können.

2.3.4. Bestimmung der lipolytischen Aktivität nach Schmidt, Stork, von Dahl (23)

2.3.4.1. Prinzip der Methode

Lipase hydrolysiert emulgierte Triglyceride langkettiger Fettsäuren. Ort der Lipasewirkung ist die Grenzfläche zwischen den Öltröpfchen und der wässrigen Phase. Bei dem hier beschriebenen Verfahren wird eine stabilisierte Olivenöl-Emulsion nach Fraser verwendet (12). Die freigesetzten Fettsäuren werden in Form ihrer Kupfersalze durch Chloroform-Extraktion abgetrennt und Kupfer nach Duncombe mit Hilfe von Diäthyldithiocarbaminat photometrisch bestimmt (9,10). Die unter optimalen Bedingungen pro Zeiteinheit freigesetzte Fettsäuremenge ist das Maß für die Aktivität der Lipase.

2.3.4.2. Herstellung der Lösungen

2.3.4.2.1. Olivenölsuspension (58 mM)

5,0 g Olivenöl und 5,0 g Gummi arabicum mit 95 ml 0,9%iger NaCl-Lösung mit dem Mixer zweimal je 5 min. verrühren.

2.3.4.2.2. Desoxycholat (10 mM)

41,5 mg Natriumdesoxycholat in 10 ml Wasser lösen.

2.3.4.2.3. Triäthanolamin-hydrochlorid-Puffer (1 M; pH=8,5)

18,6 g Triäthanolamin-hydrochlorid in 70 ml Wasser lösen und mit ca. 16 ml 5 N NaOH auf pH=8,5 einstellen; mit Wasser ad 100 ml auffüllen.

2.3.4.2.4. Kupferreagens

18,6 g Triäthanolamin-hydrochlorid in ca. 70 ml Wasser lösen. 6,45 g $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ in 100 ml Wasser lösen. Beide Lösungen mischen, mit ca. 18,5 ml 5 N NaOH auf pH=7,5 einstellen (pH-Meter), mit Wasser ad 200 ml auffüllen.

2.3.4.2.5. Diäthyldithiocarbaminat (11 mM)

250 mg Natriumdiäthyldithiocarbaminat in sec. Butanol ad 100 ml lösen.

2.3.4.3. Arbeitsweise

2.3.4.3.1. Bestimmungsansatz

Inkubationstemperatur: 30°C, Inkubationsvolumen: 1,1 ml. Probe-Leerwert: 0,1 ml Probe durch 1 min. Erhitzen im 80°C heißen Alublock inaktiviert. Wie Probe behandeln. Reagenzien-Leerwert: 5 ml Chloroform und 2,5 ml Kupferreagens; entsprechend Pipettierschema weiter behandeln. Photometrische Messung bei Hg 436 nm gegen entsprechenden Probe-Leerwert am Eppendorf-Meßplatz 5086.

Inkubationsgemisch unmittelbar vor Versuchsbeginn ansetzen:

Olivenölsuspension	50 Vol.%
Desoxycholat-Lösung	5 Vol.%
Triäthanolamin-Puffer	45 Vol.%

In Zentrifugengläser mit eingeschliffenem Stopfen pipettieren:

Inkubationsgemisch	1,0 ml
Enzymlösung	0,1 ml

Im Schüttelwasserbad inkubieren, nach genau 10 min. durch 1 min. Erhitzen der Gläser im 80°C Alublock Reaktion unterbrechen.

Chloroform	5,0 ml
Kupferreagens	2,5 ml

zusammengeben, Röhrchen verschließen, 20 min. im Reagensglas-Rotator schütteln, zur Phasentrennung 10 min. bei 4500 U/min. zentrifugieren. Wäßrige Phase mit Pasteurpipetten absaugen (Wasserstrahlpumpe). In sauberes Zentrifugenglas (ohne Kupferspuren zu übertragen !!) weiter pipettieren:

Chloroform-Phase	2,0 ml und
Diäthyldithiocarbaminatlösung	0,25 ml zufügen,

Extinktion messen. Die Farbe ist bis zu 24 h stabil.

2.3.4.3.2. Palmitinsäure-Eichkurve

Lösen von Palmitinsäure in Chloroform und Herstellung einer Verdünnungsreihe von 0,01 µM Palmitinsäure/ml Lösung bis 0,12 µM Palmitinsäure/ml Lösung. Zugabe von 5,0 ml Palmitinsäure-Chloroform-Lösung zu 2,5 ml Kupferreagens. Entsprechend dem Pipettierschema weiter behandeln. Extinktionen gegen µMol Palmitinsäure pro ml Palmitinsäure-Chloroform-Lösung auftragen.

2.3.4.3.3. Spezifität der Methode

Die Spezifität des Enzyms hängt weitgehend von der Art der Fettsäurereste ab. Niedermolekulare Fette, wie z.B. Tributyrin oder Triacetin sind kein ideales Substrat. Dies gilt in gleicher Weise für nicht natürliche chromogene Substrate, z. B.

α-Naphthol-Laurat, Indoxylacetat u.a. Die zuletzt genannten Substrate werden auch unspezifisch durch Peptidpeptidohydrolasen gespalten. Das hier beschriebene Verfahren ist für Lipase spezifisch.

2.3.5. Bestimmung des Proteingehaltes der Medikamente nach Lowry (15)

2.3.5.1. Prinzip der Methode

Wird zu kupferbehandelter Proteinlösung Folin-Ciocalteus-Phenolreagens zugegeben, so tritt durch Reduktion des Folin-Ciocalteus-Phenolreagens eine Blaufärbung auf. Diese Blaufärbung ist proportional der Proteinkonzentration und kann photometrisch gemessen werden.

2.3.5.2. Herstellung der Lösungen

2.3.5.2.1. Reagens A

2% Na_2CO_3 in 0,10 N NaOH

2.3.5.2.2. Reagens B

0,5% $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in einer 1%igen wäßrigen Kaliumnatriumtartratlösung.

2.3.5.2.3. Reagens C - Alkalische Kupferlösung

Mischen von 1,0 ml Reagens B mit 50,0 ml Reagens A. Das Reagens C ist nach einem Tag zu verwerfen.

2.3.5.2.4. Reagens D - Carbonat-Kupfer-Lösung

Mischen von 50 ml einer 2%igen wäßrigen Na_2CO_3-Lösung mit 1,0 ml Reagens B.

2.3.5.2.5. Reagens E - Folin-Ciocalteus-Reagens

2.3.5.3. Arbeitsweise

2.3.5.3.1. Bestimmungsansatz

Photometrische Messung bei 750 nm am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II gegen bidest. Wasser. Quarzküvette, Schichtdicke 1 cm. Spalt 0,05 mm.

In spitze Zentrifugengläschen pipettieren:
1,0 ml Enzymlösung + 0,5 ml 1 N NaOH
mischen und 30 min. bei Zimmertemperatur stehen lassen.
Nach 30 min. 1,0 ml Reagens D
+ 0,2 ml Enzymlösung (von o.a. 1,5 ml entnehmen); schnell mischen und 10 min. oder länger bei Raumtemperatur stehen lassen, danach Zugabe von
0,1 ml Reagens E,
innerhalb von 1 bis 2 Sekunden verrühren, stehen lassen und nach 45 min. oder länger die Extinktion messen.

2.3.5.3.2. Albumin-Eichkurve

Lösen von Albumin in bidest. Wasser und Herstellen einer Verdünnungsreihe von 2,5 µg Albumin/ml bis 250 µg Albumin/ml. Behandlung nach oben angeführtem Pipettierschema. Extinktionen gegen µg Protein/ml auftragen.

3. Ergebnisse

3.1. Vorversuche

3.1.1. Aktivierung der Proenzyme mit proteolytischer Aktivität durch Enterokinase

Um eine etwaige Bedeutung der Dünndarm-Enterokinase bei der Aktivierung der proteolytischen Proenzyme in den Pankreasenzympräparaten auffinden zu können, wurden die folgenden Versuchsserien durchgeführt, bei der Enzymlösungen ohne und mit verschieden konzentrierten Enterokinaselösungen versetzt wurden:
Vorinkubation im 35°C-Wasserbad mit Durchführung von Enzymbestimmungen in regelmäßigem Abstand von 30 min.
Als Enzymlösung wurde bei diesen Serien eine 0,01 %ige (w/v) Lösung von Pankreon Tabletten verwendet.
Serie 1: 18,0 ml Enzymlsg. + 2,0 ml 0,9 %ige NaCl
Serie 2: 18,0 ml Enzymlsg. + 2,0 ml 0,005 %ige Enterok.-Lsg.
Serie 3: 18,0 ml Enzymlsg. + 2,0 ml 0,01 %ige Enterok.-Lsg.
Serie 4: 18,0 ml Enzymlsg. + 2,0 ml 0,02 %ige Enterok.-Lsg.
Die Versuchsreihen erbrachten die in Abb. 1 dargestellten Ergebnisse. Die Kurven 3 und 4 verlaufen ab 120 min. Vorinkubation parallel zur Abszisse, d.h. eine längere Vorinkubation hat keine Steigerung der proteolytischen Aktivität zur Folge. Kurve 2 zeigt erst von 140 min. an einen parallelen Verlauf zur Abszisse; da entsprechend weniger Enterokinase zugegeben worden ist, muß länger vorinkubiert werden. Bei Kurve 1 (ohne Enterokinase) steigt die Kurve stetig an, d.h. die proteolytischen Enzyme konnten während einer 400 minütigen Vorinkubation nicht vollständig aktiviert werden.
Mithin werden die proteolytischen Enzyme unter folgenden Bedingungen vollständig aktiviert:

1) Vorinkubation länger als 120 min. bei 35°C
2) Verdünnung der 0,01%igen Enzymlösung im Verhältnis 9:1 mit 0,02%iger Enterokinaselösung, wobei bei

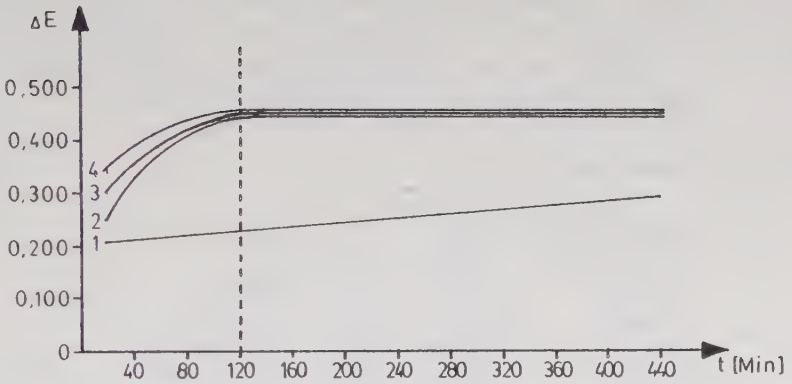

Abb. 1:
Abhängigkeit der proteolytischen Aktivität von der Aktivierung durch Enterokinase
Abszisse: Zeit der Vorinkubation im 35°C-Wasserbad in min.
Ordinate: Bei der Bestimmung der proteolytischen Aktivität erhaltene Extinktionsdifferenz ΔE

der Umrechnung von der Extinktionsdifferenz in Enzymeinheiten die Verdünnung entsprechend berücksichtigt werden muß.

3.2. Eichkurven

3.2.1. Trypsin-Eichkurve

3.2.1.1. Allgemeines

Methodisches Vorgehen wie unter 2.3.2.3.1. beschrieben. Zur Herstellung einer Verdünnungsreihe von Trypsinlösungen wurde folgende Stammlösung hergestellt: 40 mg Trypsin wurden in 200 ml 1 mN HCl gelöst (Verwendung von 1 mN HCl nach Rick (20)). Von dieser

Stammlösung wurden entsprechende Mengen mit Phosphatpuffer verdünnt, um Verdünnungsreihen zwischen 1 µg Trypsin/ml bis 30 µg Trypsin/ml zu erhalten.
Photometrische Messung bei 280 nm mit einem Spalt von 0,2 mm am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II.

3.2.1.2. Ergebnisse

Konzentration	ΔE	s	Vk
1 µg/ml	0,079	0,0034	4,20 %
2 µg/ml	0,165	0,0064	3,85 %
3 µg/ml	0,208	0,0055	2,62 %
4 µg/ml	0,250	0,0043	1,73 %
5 µg/ml	0,290	0,0045	1,54 %
6 µg/ml	0,313	0,0051	1,61 %
8 µg/ml	0,368	0,0071	1,92 %
10 µg/ml	0,423	0,0060	1,43 %
12 µg/ml	0,451	0,0088	1,95 %
15 µg/ml	0,493	0,0099	2,02 %
18 µg/ml	0,515	0,0107	2,07 %
20 µg/ml	0,531	0,0063	1,19 %
25 µg/ml	0,552	0,0070	1,27 %
30 µg/ml	0,566	0,0051	0,90 %

Tab. 1:
Werte zur Trypsin-Eichkurve
Es wurde eine Verdünnungsreihe von Trypsinlösungen hergestellt (µg Trypsin/ml Lösung), die Casein spaltet und in Trichloressigsäure lösliche Bruchstücke freisetzt. Die photometrischen Bestimmungen ergaben die in Tab. 1 dargestellten Extinktionsdifferenzen ΔE mit den Standardabweichungen s und den Variationskoeffizienten Vk.

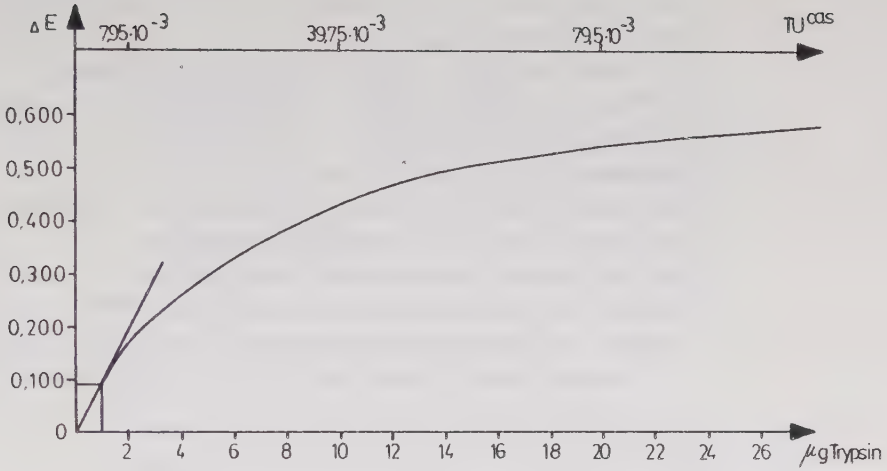

Abb. 2:
Trypsin-Eichkurve
Auf der unteren Abszisse sind diejenigen Mengen an Trypsin in µg aufgetragen, die in Form einer Verdünnungsreihe für die Bestimmung eingesetzt wurden. Auf der Ordinate sind die Extinktionsdifferenzen ΔE aufgetragen. Die obere Abszisse stellt die Einheitenskala für die proteolytische Aktivität (TU^{cas}) nach Kunitz dar.

3.2.1.3. Berechnung der "Kunitz-Einheiten"

Nach Kunitz ist eine Einheit (TU^{cas}) diejenige Trypsinmenge, die unter den beschriebenen Bedingungen (20 min. Inkubation bei 35°C, Gesamtvolumen des Ansatzes 2,0 ml, nach Zugabe von Trichloressigsäure 5,0 ml) soviel trichloressigsäure-lösliche Bruchstücke freisetzt, daß die Extinktion bei 280 nm in 1 min. um 1,000 ansteigt. Spezifische Aktivität: TU^{cas}/mg Enzymprotein.

Die Steigung der Ursprungsgeraden durch den Anfangspunkt der Kurve ist ein Maß für die spez. Aktivität des verwendeten Trypsins.
Aus obenstehender Eichkurve ergibt sich demnach:
$TU^{cas}/\mu g$ Trypsin $= \frac{0{,}0795}{1 \cdot 20} = 3{,}975 \cdot 10^{-3}$ $TU^{cas}/\mu g$ Trypsin
($0{,}0795 = E_{280}/20$ min.; 1 = μg Trypsin/ml; 20 = Umrechnung von $E_{20\ min}$ auf $E_{1\ min}$).
Das heißt also, daß 1 mg des eingesetzten kristallisierten Trypsins 3,975 TU^{cas} entspricht.
Auf der oberen Abszisse der Trypsin-Eichkurve wurde die der Ordinate (E/20 min) zugehörigen TU^{cas} eingetragen. Diese Skala ist unabhängig von der Reinheit des untersuchten Präparates, so daß die Aktivität der unbekannten Proben aus der Eichkurve bevorzugt direkt in TU^{cas} abgelesen wird.

3.2.2. Maltose-Eichkurve

3.2.2.1. Allgemeines

Einzelheiten über die Methodik siehe unter Kapitel 2.3.3.3.2. Photometrische Messung bei Hg 546 nm mit einem Spalt von 1 mm x 6 mm am Eppendorf-Photometer. Da die Farbintensität stark von der Temperatur abhängt, wurden sämtliche Proben vor der Messung im Wasserbad auf 25°C gebracht; während des Meßvorganges wurde der Küvettenhalter außerdem mittels eines Ultra-Thermostaten der Firma Köttermann auf einer konstanten Temperatur von 25°C gehalten.

3.2.2.2. Ergebnisse

Konzentration	ΔE	s	Vk
0,20 ml Maltose/Ansatz	0,210	0,020	8,19 %
0,40 ml Maltose/Ansatz	0,400	0,030	6,85 %
0,50 ml Maltose/Ansatz	0,499	0,014	2,76 %
0,60 ml Maltose/Ansatz	0,612	0,019	3,10 %
0,80 ml Maltose/Ansatz	0,772	0,050	6,60 %
1,00 ml Maltose/Ansatz	0,947	0,048	5,03 %

Tab. 2:
Meßwerte zur Maltose-Eichkurve
Es wurde jeweils eine bestimmte Menge Maltose mit Dinitrosalicylsäurereagens behandelt und die zu dieser bestimmten Menge Maltose zugehörige Extinktionszunahme photometrisch bestimmt. Die gemessenen Extinktionsdifferenzen sind neben Standardabweichungen und Variationskoeffizienten in der Tabelle eingetragen.

3.2.2.3. Berechnung der Regressionsgeraden

Aus den erhaltenen Extinktionswerten läßt sich eine Regressionsgerade der Form $y = a_1 \cdot x + a_o$ berechnen. Die einzelnen Parameter lauten: $a_1 = 0,92$, $a_o = 0,03$; der Korrelationskoeffizient beträgt: $r^2 = 0,98$.
Somit läßt sich die Maltose-Eichkurve durch die Gleichung $y = 0,92 \cdot x + 0,03$ charakterisieren.

Abb. 3 (Seite 22):
Maltose-Eichkurve
In Abb. 3 sind die Extinktionsdifferenzen in Abhängigkeit vom Maltosegehalt eingetragen, so daß bei den zu bestimmenden Proben umgekehrt aus den Extinktionsdifferenzen die Maltosemenge abgelesen werden kann.

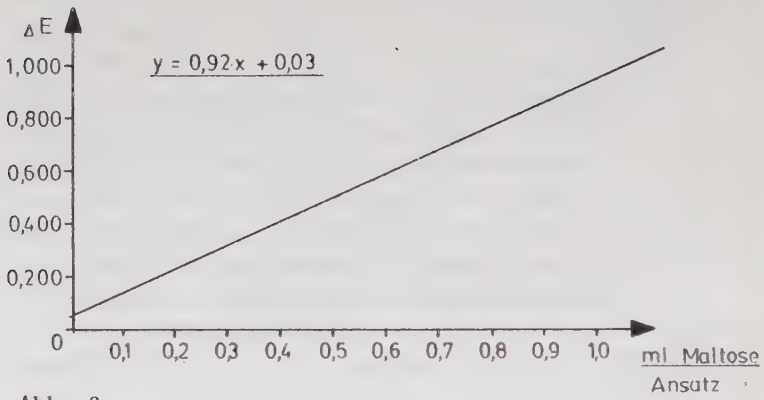

Abb. 3

3.2.2.4. Berechnung des tatsächlichen Maltosegehaltes

Die Standardlösung enthielt 100 mg Maltose/100 ml bidest. Wasser, d.h. 1 mg Maltose/ml Standardlösung. Zur Berechnung des Wassergehalts wurden exakt 10 g Maltose abgewogen und eine Woche in einem Exsiccator über Phosphorpentoxid-Trockenmittel aufbewahrt. Beim Abwiegen nach einer Woche konnte ein Fehlgewicht von 12,03 mg infolge des Wasserentzugs festgestellt werden; also war in der Standardlösung nicht 1mg Maltose/ml Lösung enthalten, sondern

0,998797 mg Maltose/ml Standardlösung.

3.2.3. Palmitinsäure-Eichkurve

3.2.3.1. Allgemeines

Methodisches Vorgehen siehe unter Methoden 2.3.4. Herstellung der Standardlösung siehe Kapitel 2.3.4.3.2. Photometrische Messung bei Hg 436 nm mit einem Spalt von 1 mm x 6 mm am Eppendorf-Photometer. Küvettenhalter und Proben wurden bei 25°C konstant temperiert. Nach Duncombe soll die Palmitinsäure-Eichkurve mit Eichkurven, die aus Standardlösungen anderer Fettsäuren erstellt wurden, eng beieinander liegen (9,10).

3.2.3.2. Ergebnisse

Konzentration	ΔE	s	Vk
0,05 µMol/5 ml Chloroform	0,055	0,0053	9,58 %
0,15 µMol/5 ml Chloroform	0,222	0,0075	3,39 %
0,25 µMol/5 ml Chloroform	0,437	0,0136	3,11 %
0,35 µMol/5 ml Chloroform	0,625	0,0256	4,11 %
0,50 µMol/5 ml Chloroform	0,893	0,0294	3,29 %
0,60 µMol/5 ml Chloroform	1,059	0,0365	3,45 %

Tab. 3:
Meßwerte zur Palmitinsäure-Eichkurve.
Es wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, wobei in jeweils 5 ml Chloroform eine definierte vorgegebene Menge Palmitinsäure enthalten war. Die ermittelten Extinktionsdifferenzen sind hier eingetragen, außerdem Standardabweichungen und Variationskoeffizienten

3.2.3.3. Berechnung der Regressionsgeraden

Aus den erhaltenen Extinktionswerten läßt sich eine Regressionsgerade der Form $y = a_1 \cdot x + a_o$ berechnen. Die Werte lauten: $a_1 = 1,85$, $a_o = -0,04$; der Korrelationskoeffizient beträgt $r^2 = 1,00$.
Somit läßt sich die Palmitinsäure-Eichkurve durch die Gleichung $y = 1,85 \cdot x - 0,04$ ausdrücken.

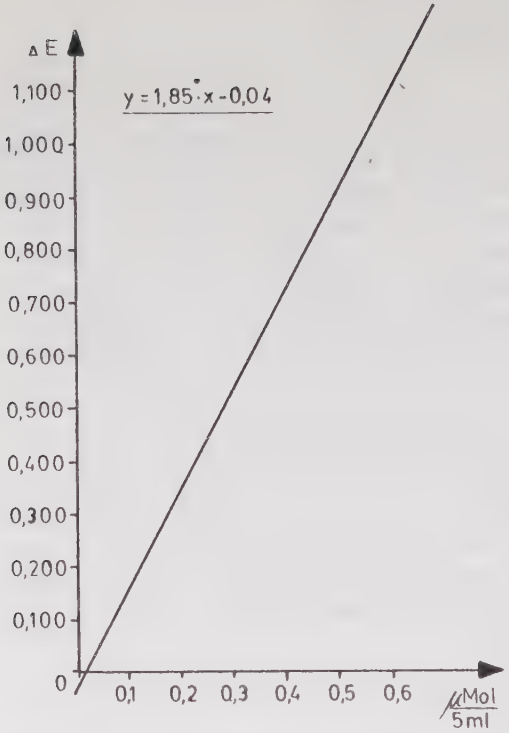

Abb. 4: Palmitinsäure-Eichkurve
Es wurden die Extinktionsdifferenzen in Abhängigkeit vom bekannten Palmitinsäuregehalt in 5 ml Chloroform aufgetragen.

3.2.4. Albumin-Eichkurve

3.2.4.1. Allgemeines

Methodisches Vorgehen siehe unter Kapitel 2.3.5. Herstellung der Albumin-Standardlösungen siehe unter 2.3.5.3.2. Photometrische Messung bei 750 nm mit einem Spalt von 0,05 mm am Zeiss-Spektralphotometer PMQ II.

3.2.4.2. Ergebnisse

Konzentration	ΔE	s	Vk
25 µg Albumin/ml Lösung	0,069	0,0018	2,69 %
50 µg Albumin/ml Lösung	0,111	0,0043	3,88 %
100 µg Albumin/ml Lösung	0,179	0,0019	1,05 %
150 µg Albumin/ml Lösung	0,236	0,0051	2,18 %
200 µg Albumin/ml Lösung	0,296	0,0052	1,77 %
250 µg Albumin/ml Lösung	0,351	0,0048	1,36 %

Tab. 4
Albumin-Eichkurve
Werte zur Erstellung der Albumin-Eichkurve. Die Verdünnungsreihe wurde wie in Kapitel 2.3.5.3. beschrieben behandelt; eingetragen sind die Extinktionsdifferenzen, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten.

3.2.4.3. Berechnung der Regressionsgeraden

Aus den erhaltenen Extinktionswerten läßt sich wiederum eine Regressionsgerade der Form $y = a_1 \cdot x + a_o$ berechnen. Folgende Werte wurden bestimmt: $a_1 = 0{,}0012$, $a_o = 0{,}047$; der Korrelationskoeffizient beträgt $r^2 = 0{,}99$. Die Formel für die Albumin-Eichkurve lautet also $y = 0{,}0012 \cdot x + 0{,}047$.

Abb. 5 (Seite 26):
Albumin-Eichkurve
Aufgetragen sind die Extinktionsdifferenzen in Abhängigkeit vom Albumingehalt/ml.

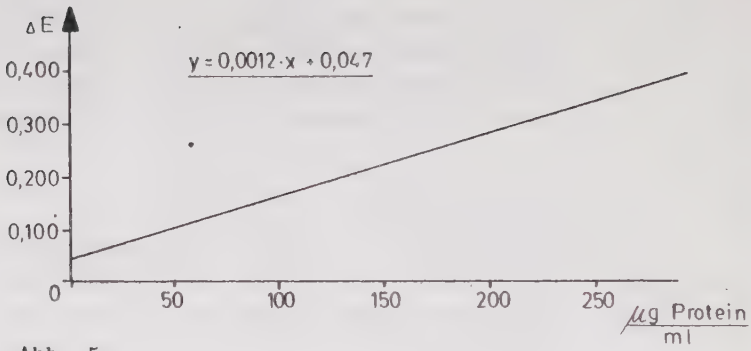

Abb. 5

3.3. Enzymbestimmungen

3.3.1. Allgemeines

Das in Tabelle 5 angegebene Gewicht der Tabletten- bzw. Dragée-Kerne stellt den nach Ablösen der Dragiermasse oder Kapselhüllen erhaltenen Mittelwert aus 5 verschiedenen Tabletten bzw. Dragées dar. Bei Panzynorm-Pulver und Pankreon-Granulat wurden sämtliche Enzymeinheiten auf 500 mg bezogen (Tablettengewicht siehe Tabelle 5). Die Chargennummern der einzelnen Medikamente, die für die Bestimmungen verwendet wurden, sowie die Verfallsdaten, soweit sie angegeben wurden, sind ebenfalls in Tabelle 5 aufgeführt. Für die Bestimmungen wurden jeweils 3 Tabletten, Dragées oder Kapseln rein zufällig Packungen derselben Chargennummer entnommen. Von jeder Tablette wurden stets 3 Bestimmungen durchgeführt, so daß insgesamt 9 Bestimmungen von jedem Medikament den Aktivitätsangaben zugrunde liegen.

Das Präparat fermento sanol wird von der Herstellerfirma als "rote und gelbe Dragées" zusammen in einer Packung angeboten. Im Gegensatz zu den roten Dragées enthalten die gelben Dragées noch zusätzlich 60 mg Bromelin bei gleichem Gallensäuren- und Pankreatingehalt. Laut Dosierungsvorschrift soll zu den Hauptmahlzeiten sowohl ein rotes als auch ein gelbes Dragée eingenommen werden, weshalb in vorliegender Arbeit ein rotes und ein gelbes Dragée zu einer Einheit mit doppeltem Gewicht zusammengefaßt wurden. Die Aktivitätsangaben beziehen sich also immer auf ein gelbes und ein rotes Dragée.

3.3.2. Proteolytische Aktivität

3.3.2.1. Berechnung der proteolytischen Aktivität

3.3.2.1.1. Berechnet wird diese Aktivität aus einem Ansatz, der 0,01 % (w/v) Tabletteneinwaage enthält und bei 35°C ohne Enterokinasezusatz 2 Stunden vorinkubiert worden ist:

$$\text{Aktivität } (TU^{cas}) = a\ (TU^{cas}) \cdot \text{Gewicht in mg} \cdot 10 \cdot 2$$

a = Die gemessene Extinktionsdifferenz wird in die Trypsin-Eichkurve eingesetzt und auf der oberen Abszisse als Faktor a in TU^{cas} abgelesen.

2 = Faktor, der die Verdünnung berücksichtigt, die bei der Zugabe von 1,0 ml Caseinlösung zu 1,0 ml Enzymlösung entsteht.

10·Gewicht = Bei der Bestimmung wird 1,0 ml Enzymlösung (enthält 0,1 mg Enzym) verwendet. Wird auf die gesamte Tablette bezogen, so muß mit dem Faktor 10·Gewicht multipliziert werden.

3.3.2.1.3. Berechnung der proteolytischen Aktivität in einem Ansatz, der 0,016 % (w/v) Tabletteneinwaage enthält und bei 35°C ohne Enterokinasezusatz 2 Stunden vorinkubiert worden ist:

Aktivität (TU^{cas}) = a (TU^{cas}) · Gewicht (mg) · 6,25 · 2

6,25·Gewicht = Bei der Bestimmung wird 1,0 ml Enzymlösung (enthält 0,16 mg Enzym) verwendet. Wird auf die gesamte Tablette bezogen, dann muß mit dem Faktor 6,25·Gewicht multipliziert werden.

3.3.2.1.4. Berechnung der proteolytischen Aktivität von einem Ansatz, der 0,016 % (w/v) Tabletteneinwaage enthält und bei 35°C mit Enterokinasezusatz 2 Stunden vorinkubiert worden ist:

$$\text{Aktivität } (TU^{cas}) = a\ (TU^{cas}) \cdot \text{Gewicht (mg)} \cdot 6{,}25 \cdot 2 \cdot \frac{10}{9}$$

3.3.2.2. Ergebnisse

Die gemessenen Extinktionsdifferenzen sind in den Tabellen 6 und 7 dargestellt. Dabei bedeuten die unterstrichenen Werte in der zweiten Zeile ($\bar{d}E$, s, Vk), da sie aus allen 9 Meßwerten berechnet wurden. Die mit +) gekennzeichneten Medikamente sind in einer 0,016 %igen Lösung verarbeitet worden.

Tab. 5:
In der ersten Spalte sind alle untersuchten Medikamente alphabetisch aufgelistet. Spalte zwei zeigt das Gewicht einer Tablette, Kapsel bzw. Dragée nach Ablösung der Dragiermasse bzw. Kapselhülle als Mittelwert aus 5 Messungen. In der dritten Spalte ist der nach Lowry bestimmte Proteingehalt pro Tablette angegeben (15). Die Chargennummern der Medikamente sowie die Verfallsdaten sind soweit vorhanden, in der letzten Spalte angegeben.

Medikament	Gewicht (mg)	mg Protein / Tablette	Chargen-nummer	Verfall-datum
1) Bilipeptal forte	677,50	321,11	909	
2) Combiase spezial	548,10	322,58	70097	
3) Combizym compositum	586,20	268,67	8440040	
4) Cotazym Kapseln	447,93	228,63	3161176381	4/80
5) Enzymase	353,80	89,21	3479	
6) Enzym gallo sanol	741,10	316,51	03960	
7) Enzypan plus	528,13	203,14	040256	
8) Femkalon	548,55	285,70	9226011	
9) fermento duodenal	571,78	235,26	02979	
10) fermento duodenal für Kinder	286,73	153,82	04804	
11) fermento sanol	1376,24	673,78	03908	
12) Festal	226,12	108,54	239 C 317	
13) Gillazym Sandoz	774,73	254,21	403180	6/80
14) Helopanzym	284,50	145,21	3-79	6/82
15) Lipazym	612,10	283,73	46019 B	
16) Nutrizym Merck	554,00	277,00	K 485706	
17) Ozym	929,00	261,28	70099	
18) Pankrease	407,21	216,33	024030 H	10/81
19) Pankreatan	370,00	196,56	932	
20) Pankreatan forte	808,80	445,78	911	
21) Pankreon compositum	304,50	103,09	403876	
22) Pankreon forte	951,00	445,78	1364478	
23) Pankreon Granulat	500,00	194,89	584272	
24) Pankreon Tabletten	267,90	126,97	891079	
25) Panpur Dragées	980,50	423,86	79071400	
26) Panzynorm Pulver	500,00	205,73	156	
27) Viokase Tabletten	361,56	171,36	01390102	9/80

Tabelle 5
(Legende Seite 28)

Tab. 6 (Seite 31):
Proteolyse mit Vorinkubation ohne Enterokinasezusatz. Extinktionsdifferenzen (ΔE), Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (Vk) der Proteolysebestimmungen mit Vorinkubation ohne Enterokinasezusatz. Die unterstrichenen Werte sind die Durchschnittswerte aus allen Bestimmungen eines Medikamentes.

Tab. 7 (Seite 32):
Proteolyse mit Vorinkubation und Enterokinasezusatz. Extinktionsdifferenzen (ΔE), Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (Vk) der Proteolysebestimmungen nach Vorinkubation mit Enterokinasezusatz.

Tab. 8 (Seite 33):
Aus den Extinktionsdifferenzen berechnete Enzymeinheiten (TU^{cas}).
Die Einheiten (TU^{cas}) sind bezogen auf
1. die ganze Tablette, Dragée oder Kapsel, bei Pulver auf 500 mg.
2. 100 mg Tabletteneinwaage
3. 100 mg Protein
In der letzten Spalte ist angegeben, wieviel mg Tabletteneinwaage 1000 TU^{cas} enthalten.

Tab. 9 (Seite 34):
Aus den gemessenen Extinktionsdifferenzen berechnete Enzymeinheiten (TU^{cas}).
Die Einheiten (TU^{cas}) sind bezogen auf
1. die ganze Tablette, Dragée oder Kapsel, bei Pulver auf 500 mg
2. 100 mg Tabletteneinwaage
3. 100 mg Protein
In der letzten Spalte ist angegeben, wieviel mg Tabletteneinwaage 1000 TU^{cas} enthalten.

Proteolyse

Vorinkubation ohne Enterokinase

Medikament	ΔE	s	Vk	ΔE	s	Vk
1) Bilipeptal forte	0,149	0,005	3,37%	0,154	0,004	2,34%
	0,169	0,008	4,81%	0,157	0,010	6,60%
2) Combiase spezial	0,250	0,012	4,73%	0,235	0,004	1,77%
	0,242	0,007	2,71%	0,242	0,010	4,05%
3) Combizym compositum	0,354	0,001	3,53%	0,338	0,004	1,04%
	0,388	0,007	1,76%	0,360	0,023	6,40%
4) Cotazym Kapseln +)	0,520	0,002	0,44%	0,541	0,009	1,58%
	0,526	0,004	0,69%	0,529	0,010	1,97%
5) Enzymase	0,110	0,005	4,17%	0,116	0,005	4,24%
	0,127	0,050	4,05%	0,118	0,008	7,16%
6) Enzym gallo sanol	0,352	0,007	2,05%	0,326	0,005	1,57%
	0,330	0,009	2,73%	0,336	0,014	4,03%
7) Enzypan plus	0,311	0,005	1,52%	0,298	0,013	4,44%
	0,322	0,009	2,71%	0,310	0,013	4,28%
8) Femkalon +)	0,453	0,014	3,09%	0,441	0,005	1,16%
	0,433	0,007	2,28%	0,442	0,012	2,72%
9) fermento duodenal	0,434	0,003	0,58%	0,432	0,007	1,63%
	0,425	0,007	1,53%	0,430	0,006	1,49%
10) fermento duodenal für Kinder	0,460	0,010	2,26%	0,507	0,018	3,60%
	0,465	0,006	1,38%	0,477	0,025	5,17%
11) fermento sanol	0,407	0,022	5,35%	0,367	0,007	1,91%
	0,380	0,018	4,62%	0,385	0,023	5,92%
12) Festal	0,275	0,005	1,82%	0,270	0,004	1,61%
	0,277	0,007	2,37%	0,274	0,006	2,05%
13) Gillazym Sandoz	0,231	0,006	2,79%	0,259	0,020	7,74%
	0,253	0,007	2,74%	0,248	0,017	6,84%
14) Helopanzym	0,202	0,004	1,87%	0,204	0,005	2,32%
	0,205	0,006	2,97%	0,204	0,004	2,18%
15) Lipazym	0,070	0,002	2,86%	0,080	0,003	3,75%
	0,072	0,003	3,67%	0,074	0,005	6,89%
16) Nutrizym Merck	0,534	0,008	1,43%	0,479	0,015	3,19%
	0,527	0,005	0,95%	0,513	0,027	5,35%
17) Ozym	0,433	0,013	3,06%	0,421	0,005	1,19%
	0,421	0,006	1,45%	0,425	0,010	2,31%
18) Pankrease	0,522	0,015	2,92%	0,504	0,013	2,62%
	0,529	0,010	1,89%	0,518	0,017	3,07%
19) Pankreatan	0,421	0,008	1,81%	0,404	0,008	1,89%
	0,406	0,015	3,77%	0,410	0,012	3,03%
20) Pankreatan forte	0,312	0,008	2,54%	0,308	0,016	5,15%
	0,332	0,008	2,28%	0,317	0,015	4,68%
21) Pankreon compositum	0,149	0,005	3,37%	0,151	0,003	2,02%
	0,149	0,003	2,05%	0,150	0,003	2,31%
22) Pankreon forte	0,325	0,007	2,15%	0,351	0,013	3,77%
	0,367	0,006	1,66%	0,348	0,020	5,80%
23) Pankreon Granulat	0,060	0,003	5,33%	0,070	0,070	10,30%
	0,067	0,002	3,12%	0,066	0,006	8,98%
24) Pankreon Tabletten	0,244	0,005	2,05%	0,211	0,008	3,58%
	0,237	0,007	3,04%	0,231	0,016	6,99%
25) Panpur Dragées	0,254	0,013	5,21%	0,273	0,005	1,80%
	0,251	0,005	2,05%	0,259	0,013	5,01%
26) Panzynorm Pulver	0,269	0,010	3,57%	0,282	0,012	4,15%
	0,248	0,005	1,85%	0,266	0,017	6,28%
27) Viokase Tabletten	0,460	0,006	1,21%	0,443	0,017	3,86%
	0,453	0,007	1,47%	0,452	0,012	2,68%

+) : Diese Medikamente wurden in 0,01%iger Lösung bestimmt, um in einem günstigen Bereich zu messen.

Tab. 6

Proteolyse

Vorinkubation mit Enterokinase

Medikament	ΔE	s	Vk	ΔE	s	Vk
1) Bilipeptal forte	0,388	0,018	4,65%	0,361	0,004	1,00%
	0,389	0,016	4,14%	0,379	0,018	4,82%
2) Combiase spezial	0,312	0,009	2,89%	0,335	0,003	0,96%
	0,324	0,005	1,46%	0,324	0,011	3,50%
3) Combizym compositum	0,446	0,013	2,89%	0,429	0,007	1,63%
	0,434	0,004	0,93%	0,436	0,011	2,43%
4) Cotazym Kapseln +)	0,546	0,002	0,37%	0,516	0,009	1,76%
	0,521	0,003	0,48%	0,528	0,015	2,76%
5) Enzymase	0,146	0,004	2,86%	0,135	0,004	3,23%
	0,160	0,007	4,15%	0,147	0,012	8,09%
6) Enzym gallo sanol	0,425	0,008	1,92%	0,390	0,018	4,65%
	0,443	0,026	5,80%	0,419	0,028	6,72%
7) Enzypan plus	0,342	0,016	4,64%	0,321	0,017	5,30%
	0,345	0,018	5,16%	0,336	0,018	5,46%
8) Femkalon +)	0,456	0,010	2,22%	0,445	0,005	1,15%
	0,444	0,005	1,15%	0,448	0,008	1,84%
9) fermento duodenal	0,495	0,010	2,10%	0,479	0,008	1,59%
	0,479	0,003	0,53%	0,484	0,010	2,09%
10) fermento duodenal für Kinder	0,540	0,018	3,34%	0,546	0,010	1,01%
	0,541	0,005	0,92%	0,542	0,010	1,88%
11) fermento sanol	0,506	0,013	2,61%	0,471	0,026	5,62%
	0,449	0,010	2,32%	0,475	0,029	6,16%
12) Festal	0,302	0,022	7,22%	0,316	0,012	3,95%
	0,325	0,007	2,15%	0,314	0,017	5,26%
13) Gillazym Sandoz	0,255	0,016	6,15%	0,270	0,011	4,22%
	0,269	0,006	2,18%	0,265	0,012	4,65%
14) Helopanzym	0,254	0,007	2,77%	0,272	0,007	2,45%
	0,263	0,007	2,75%	0,263	0,010	3,75%
15) Lipazym	0,343	0,010	3,99%	0,371	0,011	2,83%
	0,322	0,017	5,21%	0,345	0,024	6,95%
16) Nutrizym Merck	0,556	0,009	1,56%	0,538	0,015	2,84%
	0,536	0,013	2,47%	0,543	0,015	2,69%
17) Ozym	0,427	0,013	3,12%	0,425	0,013	3,17%
	0,428	0,005	1,17%	0,427	0,010	2,32%
18) Pankrease	0,510	0,013	2,47%	0,514	0,008	1,51%
	0,519	0,003	0,48%	0,514	0,008	1,64%
19) Pankreatan +)	0,416	0,009	2,05%	0,399	0,007	1,63%
	0,400	0,004	0,90%	0,405	0,010	2,45%
20) Pankreatan forte +)	0,455	0,009	1,99%	0,439	0,003	0,57%
	0,467	0,006	1,36%	0,454	0,013	2,82%
21) Pankreon compositum	0,474	0,010	2,19%	0,416	0,015	3,48%
	0,445	0,004	0,94%	0,445	0,027	6,01%
22) Pankreon forte	0,493	0,017	3,51%	0,523	0,026	4,91%
	0,525	0,009	1,65%	0,514	0,022	4,34%
23) Pankreon Granulat	0,166	0,005	3,04%	0,173	0,003	1,85%
	0,187	0,003	1,72%	0,175	0,010	5,76%
24) Pankreon Tabletten	0,481	0,013	2,77%	0,474	0,011	2,33%
	0,485	0,010	2,08%	0,480	0,011	2,31%
25) Panpur Dragées	0,467	0,007	1,40%	0,472	0,008	1,59%
	0,465	0,004	0,78%	0,468	0,006	1,33%
26) Panzynorm Pulver	0,402	0,008	2,01%	0,422	0,008	1,81%
	0,438	0,013	2,85%	0,421	0,018	4,27%
27) Viokase Tabletten +)	0,469	0,007	1,49%	0,458	0,003	0,55%
	0,456	0,007	1,58%	0,461	0,008	1,72%

+) : Siehe Fußnote Seite 31

Tab. 7

Proteolyse

Vorinkubation ohne Enterokinase

Medikament	TU^{cas} / Tablette	TU^{cas} / 100 mg Tabl.	TU^{cas} / 100 mg Prot.	mg Tabl. / 1000 TU^{cas}
1) Bilipeptal forte	67,32	9,94	20,96	10063,87
2) Combiase spezial	103,47	18,88	32,08	5297,19
3) Combizym compositum	212,59	36,27	79,13	2757,42
4) Cotazym Kapseln	655,23	146,28	286,59	683,62
5) Enzymase	25,49	7,20	28,57	13883,88
6) Enzym gallo sanol	235,63	31,79	74,45	3145,19
7) Enzypan plus	159,06	27,32	78,30	3659,81
8) Femkalon	477,53	87,05	167,14	1148,72
9) fermento duodenal	292,58	51,17	124,36	1954,27
10) fermento duodenal für Kinder	188,03	65,58	122,24	1524,92
11) fermento sanol	560,65	40,74	83,21	2454,77
12) Festal	75,98	22,61	70,00	4423,80
13) Gillazym Sandoz	152,03	19,62	59,80	5095,90
14) Helopanzym	40,98	14,40	28,22	6942,41
15) Lipazym	28,89	4,72	10,18	21187,26
16) Nutrizym Merck	481,65	86,94	173,88	1150,21
17) Ozym	461,53	49,68	176,64	2012,87
18) Pankrease	362,12	88,93	167,39	1124,52
19) Pankreatan	170,95	46,20	86,97	2164,38
20) Pankreatan forte	231,04	28,57	46,09	3500,69
21) Pankreon compositum	28,74	9,44	27,88	10594,99
22) Pankreon forte	325,99	34,28	73,13	2917,27
23) Pankreon Granulat	19,87	3,97	10,75	25163,56
24) Pankreon Tabletten	46,58	17,38	36,69	5751,40
25) Panpur Dragées	204,58	20,86	48,27	4792,75
26) Panzynorm Pulver	110,54	22,11	53,73	4523,25
27) Viokase Tabletten	333,43	92,22	194,58	1084,37

Tabelle 8 (Legende siehe Seite 30)

Proteolyse

Vorinkubation mit Enterokinase

Medikament	TU^{cas} Tablette	TU^{cas} 100 mg Tabl.	TU^{cas} 100 mg Prot.	mg Tabl. 1000 TU^{cas}
1) Bilipeptal forte	302,92	44,71	94,34	2236,56
2) Combiase spezial	181,53	33,12	56,27	3019,34
3) Combizym compositum	342,99	58,51	127,66	1709,09
4) Cotazym Kapseln	727,76	162,47	318,31	615,49
5) Enzymase	35,16	9,94	39,41	10065,42
6) Enzym gallo sanol	396,81	53,54	125,37	1867,64
7) Enzypan plus	205,65	35,33	101,24	2830,68
8) Femkalon	552,18	100,66	193,27	993,43
9) fermento duodenal	451,34	78,94	191,85	1266,85
10) fermento duodenal für Kinder	322,88	112,61	209,91	888,04
11) fermento sanol	1010,38	73,42	149,96	1362,10
12) Festal	104,83	31,19	96,58	3206,33
13) Gillazym Sandoz	183,89	23,74	72,34	4213,01
14) Helopanzym	67,52	23,73	46,49	4213,57
15) Lipazym	226,38	36,98	79,79	2703,86
16) Nutrizym Merck	623,85	112,61	225,22	888,03
17) Ozym	515,37	55,48	197,25	1802,59
18) Pankrease	395,61	97,15	182,87	1029,32
19) Pankreatan	297,31	80,35	151,26	1244,49
20) Pankreatan forte	835,58	103,31	166,69	967,95
21) Pankreon compositum	186,57	61,28	57,84	1632,09
22) Pankreon forte	918,67	96,60	206,08	1035,19
23) Pankreon Granulat	63,48	12,69	34,33	7876,50
24) Pankreon Tabletten	202,59	75,62	159,56	1322,38
25) Panpur Dragées	690,07	7038	162,81	1420,87
26) Panzynorm Pulver	270,48	54,10	131,47	3515,97
27) Viokase Tabletten	389,49	107,72	227,29	928,29

Tabelle 9 (Legende siehe Seite 30)

Abb. 6 (Seite 36):
Graphische Darstellung der ermittelten Enzymeinheiten (TU^{cas}), bezogen auf eine ganze Tablette, Kapsel oder ein Dragée bzw. bei Pulver auf 500 mg. Die schraffierten Säulen geben die Werte ohne Aktivierung mit Enterokinase an, während die ausgefüllten Säulen Werte mit Enterokinasezusatz darstellen.

Abb. 7 (Seite 37):
Graphische Darstellung der ermittelten Enzymeinheiten (TU^{cas}), bezogen auf 100 mg Tabletteneinwaage. Die schraffierten Säulen geben die Werte ohne Aktivierung an, während die ausgefüllten Säulen Werte mit Enterokinasezusatz darstellen.

Abb. 8 (Seite 38):
Graphische Darstellung der ermittelten Enzymeinheiten (TU^{cas}), bezogen auf 100 mg Protein. Die schraffierten Säulen geben die Werte ohne Aktivierung an, während die ausgefüllten Säulen Werte mit Enterokinasezusatz darstellen.

Abb. 9 (Seite 39):
Jeweilige Tabletteneinwaage in mg, die 1000 TU^{cas} enthält.

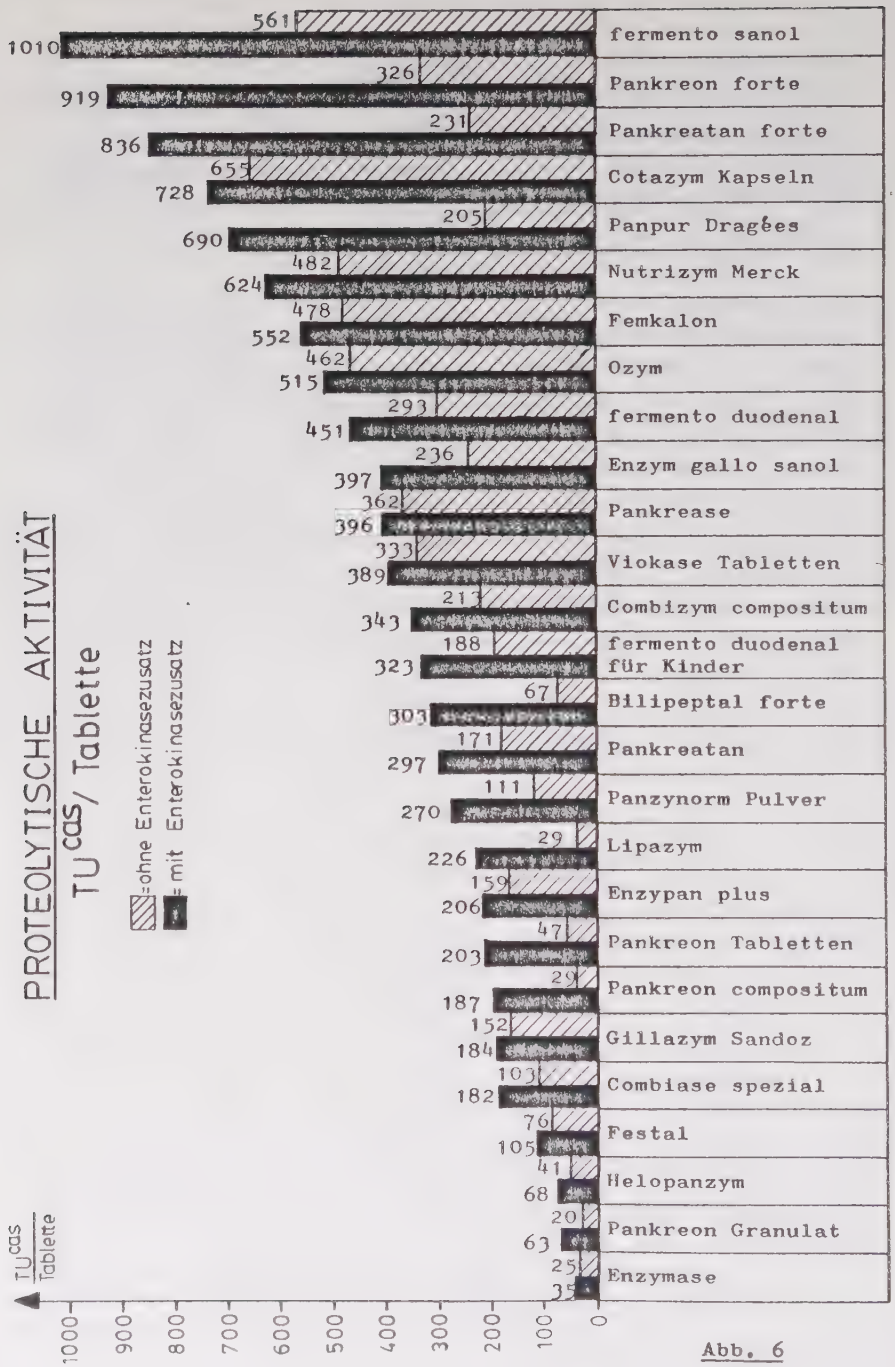
PROTEOLYTISCHE AKTIVITÄT
TU cas / Tablette
= ohne Enterokinasezusatz
= mit Enterokinasezusatz
TU cas / Tablette
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
561
1010
fermento sanol
326
919
Pankreon forte
231
836
Pankreatan forte
655
728
Cotazym Kapseln
205
690
Panpur Dragées
482
624
Nutrizym Merck
478
552
Femkalon
462
515
Ozym
293
451
fermento duodenal
236
397
Enzym gallo sanol
362
396
Pankrease
333
389
Viokase Tabletten
213
343
Combizym compositum
188
323
fermento duodenal für Kinder
67
303
Bilipeptal forte
171
297
Pankreatan
111
270
Panzynorm Pulver
29
226
Lipazym
159
206
Enzypan plus
47
203
Pankreon Tabletten
29
187
Pankreon compositum
152
184
Gillazym Sandoz
103
182
Combiase spezial
76
105
Festal
41
68
Helopanzym
20
63
Pankreon Granulat
25
35
Enzymase

Abb. 6

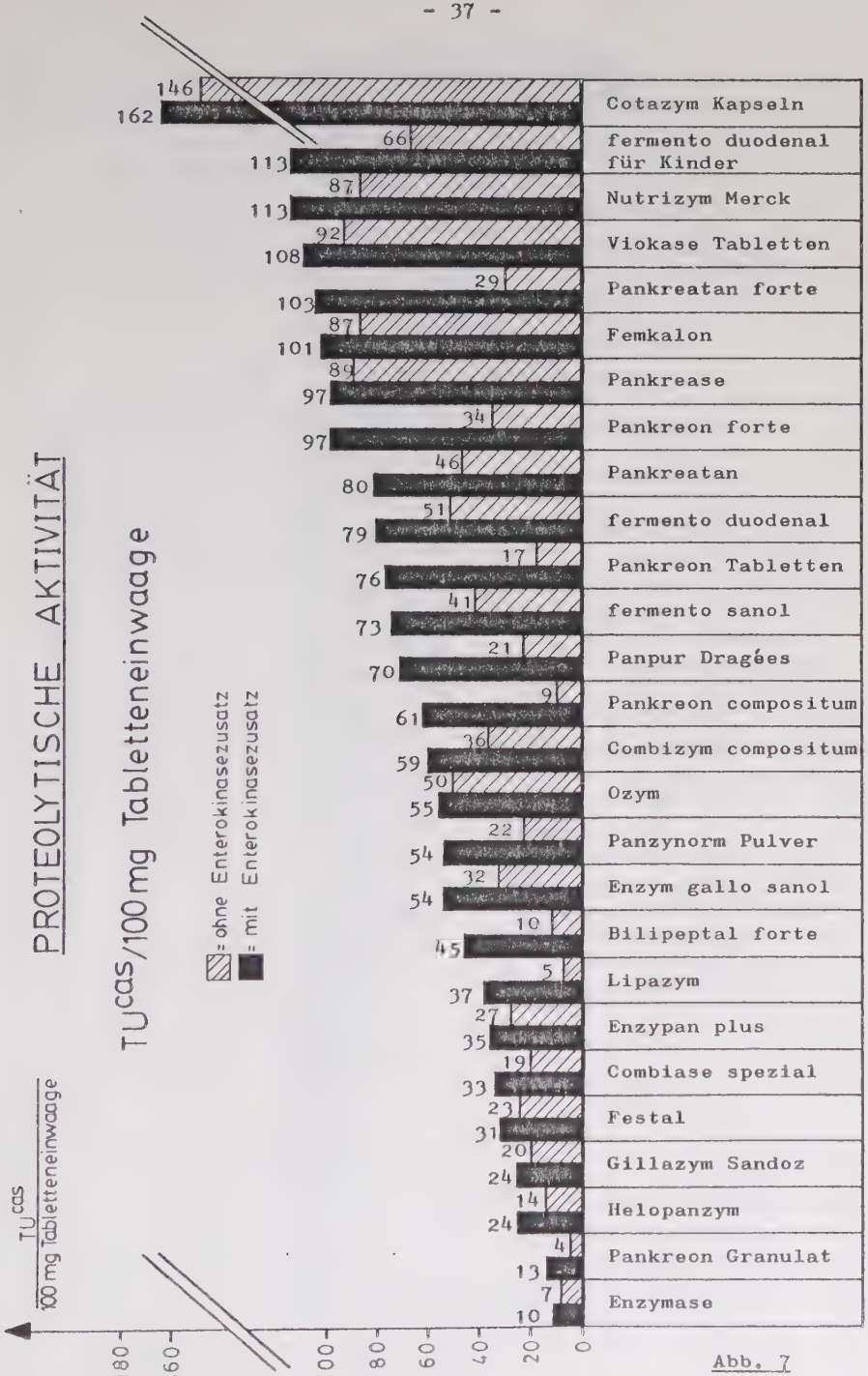
PROTEOLYTISCHE AKTIVITÄT
TU cas/100 mg Tabletteneinwaage
= ohne Enterokinasezusatz
= mit Enterokinasezusatz
TU cas / 100 mg Tabletteneinwaage
Cotazym Kapseln 146 162
fermento duodenal für Kinder 66 113
Nutrizym Merck 87 113
Viokase Tabletten 92 108
Pankreatan forte 29 103
Femkalon 87 101
Pankrease 89 97
Pankreon forte 34 97
Pankreatan 46 80
fermento duodenal 51 79
Pankreon Tabletten 17 76
fermento sanol 41 73
Panpur Dragées 21 70
Pankreon compositum 9 61
Combizym compositum 36 59
Ozym 50 55
Panzynorm Pulver 22 54
Enzym gallo sanol 32 54
Bilipeptal forte 10 45
Lipazym 5 37
Enzypan plus 27 35
Combiase spezial 19 33
Festal 23 31
Gillazym Sandoz 20 24
Helopanzym 14 24
Pankreon Granulat 4 13
Enzymase 7 10
180
160
100
80
60
40
20
0

Abb. 7

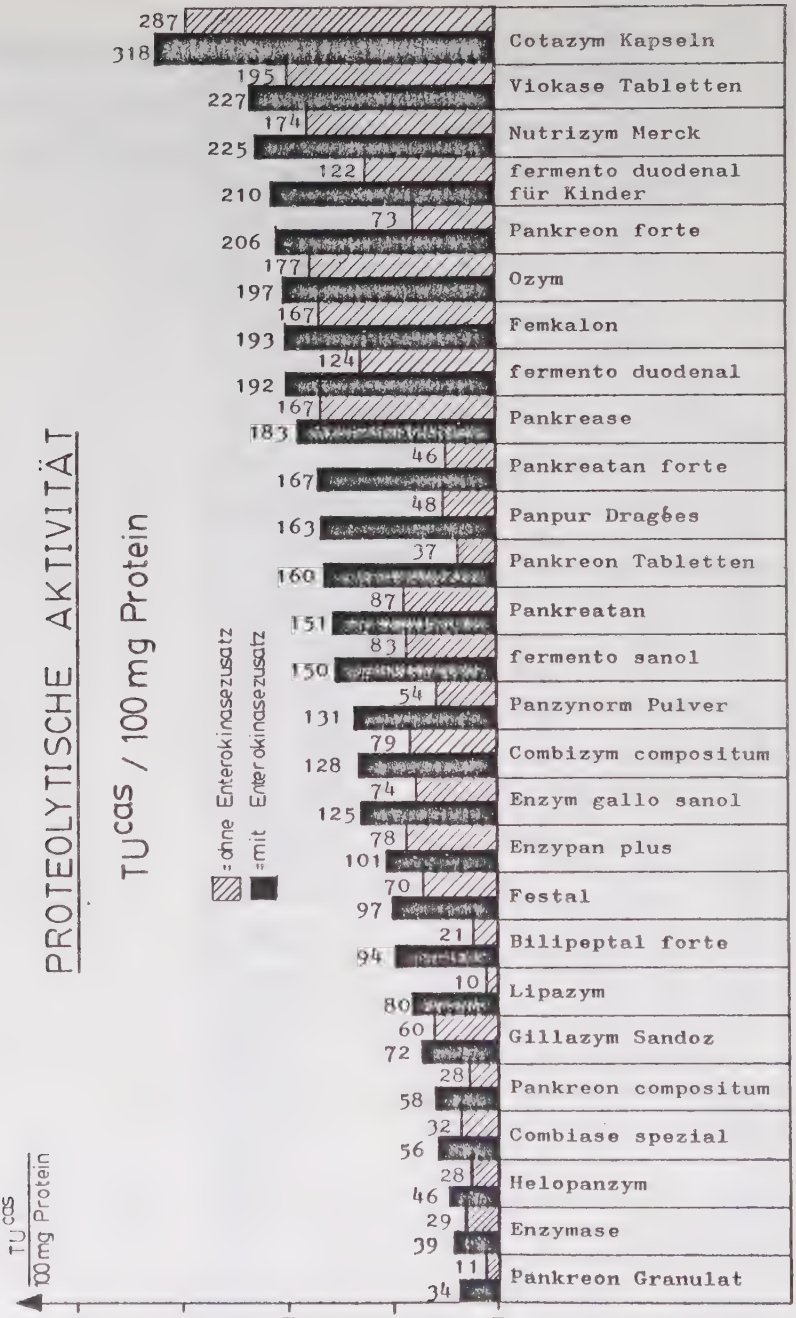
PROTEOLYTISCHE AKTIVITÄT
TU cas / 100 mg Protein
= ohne Enterokinasezusatz
= mit Enterokinasezusatz
TU cas / 100 mg Protein
400
300
200
100
0
287
318
Cotazym Kapseln
195
227
Viokase Tabletten
174
225
Nutrizym Merck
122
210
fermento duodenal für Kinder
73
206
Pankreon forte
177
197
Ozym
167
193
Femkalon
124
192
fermento duodenal
167
183
Pankrease
46
167
Pankreatan forte
48
163
Panpur Dragées
37
160
Pankreon Tabletten
87
151
Pankreatan
83
150
fermento sanol
54
131
Panzynorm Pulver
79
128
Combizym compositum
74
125
Enzym gallo sanol
78
101
Enzypan plus
70
97
Festal
21
94
Bilipeptal forte
10
80
Lipazym
60
72
Gillazym Sandoz
28
58
Pankreon compositum
32
56
Combiase spezial
28
46
Helopanzym
29
39
Enzymase
11
34
Pankreon Granulat

Abb. 8

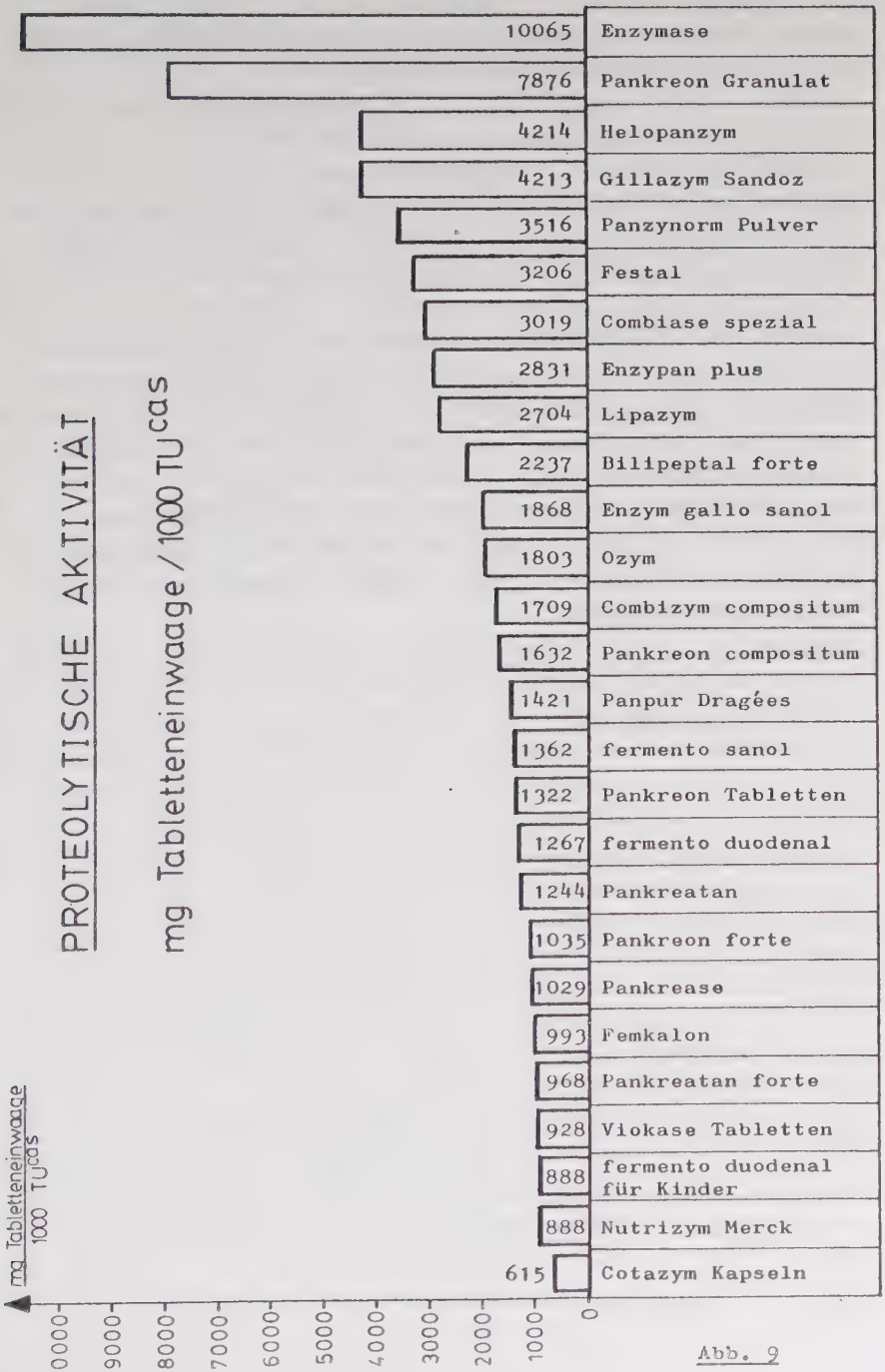
PROTEOLYTISCHE AKTIVITÄT
mg Tabletteneinwaage / 1000 TU cas
mg Tabletteneinwaage / 1000 TU cas
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
10065 Enzymase
7876 Pankreon Granulat
4214 Helopanzym
4213 Gillazym Sandoz
3516 Panzynorm Pulver
3206 Festal
3019 Combiase spezial
2831 Enzypan plus
2704 Lipazym
2237 Bilipeptal forte
1868 Enzym gallo sanol
1803 Ozym
1709 Combizym compositum
1632 Pankreon compositum
1421 Panpur Dragées
1362 fermento sanol
1322 Pankreon Tabletten
1267 fermento duodenal
1244 Pankreatan
1035 Pankreon forte
1029 Pankrease
993 Femkalon
968 Pankreatan forte
928 Viokase Tabletten
888 fermento duodenal für Kinder
888 Nutrizym Merck
615 Cotazym Kapseln

Abb. 9

In Abbildung 6 sind die gemessenen proteolytischen Aktivitäten pro Tablette, Dragée oder Kapsel und bei Granulat bzw. Pulver pro jeweils 500 mg zusammengestellt.
Für diese absoluten Zahlen spielt das Tablettengewicht schon deshalb eine bedeutende Rolle, weil ausschließlich solche Medikamente die ersten Plätze einnehmen, die ein hohes Tablettengewicht haben. So wiegt fermento sanol, das an erster Stelle liegt, 1376 mg. Pankreon forte belegt mit 951 mg Gewicht den zweiten Platz, während z.B. fermento duodenal für Kinder mit 287 mg auf Platz 14 liegt.
Abbildung 7 zeigt die Aktivität pro 100 mg Tablettengewicht. Die Reihenfolge der Präparate, geordnet nach der proteolytischen Aktivität, hat sich dadurch wesentlich geändert; so ist das bei vorhergehender Abbildung an erster Stelle stehende Medikament fermento sanol jetzt auf den 12. Platz zurückgefallen. Cotazym-Kapseln, fermento duodenal für Kinder und Nutrizym Merck belegen nunmehr die ersten 3 Plätze. Am Schluß dieser Tabelle stehen die Medikamente Gillazym Sandoz, Helopanzym, Pankreon Granulat und Enzymase.
Diagramm 8 stellt die Aktivität pro 100 mg Protein dar. Diese Werte sind völlig unabhängig vom absoluten Tablettengewicht und geben die enzymatische Aktivität von 100 mg Protein an. Den ersten Platz nimmt Cotazym ein. Auf dem zweiten und dritten Platz stehen mit nahezu gleich guter spezifischer proteolytischer Kapazität Viokase-Tabletten und Nutrizym-Merck. Die Schlußgruppe wird von den Medikamenten Pankreon compositum, Combiase spezial, Helopanzym, Enzymase und Pankreon Granulat gebildet.
In Abbildung 9 ist diejenige Menge an Tabletteneinwaage aufgezeichnet, die ein Patient einnehmen muß, um 1000 TU^{cas} aufzunehmen. Die Reihenfolge der Medikamente ist hier gerade umgekehrt wie in Abbildung 7, d.h. die an letzter Stelle stehenden Medikamente sind hinsichtlich ihrer proteolytischen Aktivität am besten.
Aus den Abbildungen 6, 7 und 8 geht hervor, daß die drei amerikanischen Präparate nach 120 Minuten Vorinkubation bereits ohne Enterokinasezusatz weitgehend aktiviert sind. Es fanden sich, bezogen auf die endgültige Aktivität, unter diesen

Bedingungen folgende Aktivierungsraten:

	Viokase	Pankrease	Cotazym Kaps.
TU^{cas}/Tablette	86 %	91 %	90 %
TU^{cas}/100 mg Tabletteneinwaage	85 %	92 %	90 %
TU^{cas}/100 mg Protein	86 %	91 %	90 %

Für die deutschen Präparate wurden folgende Werte gefunden:
Ozym 90 %, Femkalon 86 %, Gillazym Sandoz 93 %, Nutrizym Merck 77 %, Enzymase 71 %. Die restlichen Präparate sind nach einer Vorinkubation von 120 Minuten ohne Enterokinasezusatz noch weniger aktiviert.
Es wird also deutlich sichtbar, wie wichtig es ist, bei einem Enterokinasemangel das richtige Präparat auszuwählen, da in diesem Fall nicht alle Medikamente ihre proteolytische Aktivität voll entfalten können.

3.3.3. Amyloklastische Aktivität

3.3.3.1. Berechnung der amyloklastischen Aktivität

3.3.3.1.1. Berechnung aus einer 0,008 %igen Lösung

$$U = \frac{(\Delta E - 0{,}03)}{0{,}92} \cdot 0{,}998797 \cdot \frac{1}{10} \cdot \frac{1}{360{,}3} \cdot \frac{\text{Gewicht}}{0{,}008} \cdot 1000$$

U = Unit = 1 U entspricht derjenigen Enzymmenge, die 1 μMol Substrat pro Minute unter Standardbedingungen umsetzt.

$\frac{\Delta E - 0{,}03}{0{,}92}$ = Einsetzen der gemessenen Extinktionsdifferenz in die Gleichung der Maltose-Eichkurve.

0,998797= Berücksichtigung des Wassergehalts der Maltose, die zur Aufstellung der Eichkurve verwendet wurde.

$\frac{1}{10}$ = Da die Enzymreaktion 10 min. lang abläuft, wird durch 10 dividiert, um die entstehende Maltose auf die Zeiteinheit zu berechnen.

$\frac{1}{360,3}$ = Die entstehende Maltose wurde in mg ausgedrückt; durch Division mit dem MG = 360,3 erhält man das Ergebnis in mMol.

1000 = Da die Definition einer Enzymeinheit den Substratumsatz in µMol vorschreibt, muß mit dem Faktor 1000 multipliziert werden.

$\frac{\text{Gewicht}}{0,004}$ = Umrechnung von der Konzentration der Enzymlösung auf die gesamte Tablettenmasse.

3.3.3.1.2. Berechnung aus einer 0,016 %igen Enzymlösung

In Analogie zur oberen Formel errechnet sich die Aktivität aus

$$U = \frac{(\Delta E - 0,03)}{0,92} \cdot 0,998797 \cdot \frac{1}{10} \cdot \frac{1}{360,3} \cdot \frac{\text{Gewicht}}{0,008} \cdot 1000$$

(0,08 = diejenige Menge Enzym, die in 0,05 ml (=Probevolumen für den Test) enthalten ist, also hier 0,08 mg).

3.3.3.2. Ergebnisse

Die in Tabelle 10 mit +) gekennzeichneten Medikamente wurden in einer 0,008 %igen Lösung (w/v) bestimmt, um in einen günstigen Meßbereich zu kommen. Alle anderen nicht gekennzeichneten Aktivitäten wurden in einer 0,016 %igen Lösung bestimmt.
In Abbildung 10 sind die amyloklastischen Aktivitäten pro Tablette, Kapsel, Dragée bzw. 500 mg Pulver oder Granulat aufgezeigt. Dabei stehen wiederum, wie bei der proteolytischen Aktivität, die Präparate mit dem größten Gewicht an erster Stelle (Fermento sanol, Femkalon, Pankreon forte, Panpur Dragée). Die letzten Plätze werden von den Medikamenten Pankreon Granulat, Pankreon Tabletten, Enzymase, Helopanzym eingenommen. Bezogen auf 100 mg Tablettengewicht (Abb. 11) verschiebt sich die Rangordnung etwas, denn die ersten

Plätze nehmen jetzt Femkalon, Cotazym Kapseln und fermento duodenal für Kinder ein, während fermento sanol auf den sechsten Platz abrutscht. Auf den letzten Stellen liegen hier Enzymase, Helopanzym und Pankreon Granulat.
Abbildung 12 zeigt die amyloklastische Aktivität pro 100 mg Protein mit den Präparaten fermento duodenal für Kinder, Pankreon compositum und Cotazym Kapseln auf den ersten drei Plätzen. Die Medikamente Lipazym, Helopanzym und Pankreatan forte bilden das Schlußlicht in dieser Liste.
Die letzte Abbildung (Abb. 13) der amyloklastischen Aktivität zeigt dasjenige Tablettengewicht an, welches 1000 U enthält. Die Reihenfolge der Präparate ist in diesem Diagramm umgekehrt wie in Abbildung 11, d.h. je geringer die Aktivität pro 100 mg Tabletteneinwaage ist, desto höher muß die Medikamentenzufuhr sein, um 1000 U aufzunehmen.

Tab. 10 (Seite 44):
Extinktionsdifferenzen (ΔE), Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (Vk) der Amylasebestimmungen. Die unterstrichenen Werte bedeuten Durchschnittswerte aus allen Bestimmungen eines Medikamentes.

Tab. 11 (Seite 45):
Aus den bestimmten Extinktionsdifferenzen berechnete Amylaseeinheiten (U). Die Einheiten (U) sind bezogen auf
1. die ganze Tablette, Dragée bzw. Kapsel, bei Pulver auf 500 mg.
2. 100 mg Tabletteneinwaage
3. 100 mg Protein
In der letzten Spalte ist angegeben, wieviel mg Tabletteneinwaage 1000 U enthalten.

Abb. 10 (Seite 46):
Graphische Darstellung der ermittelten Enzymeinheiten (U), bezogen auf eine ganze Tablette, Kapsel oder eines Dragée, bei Pulver oder Granulat auf 500 mg.

Amylase

Medikament	ΔE	s	Vk	ΔE	s	Vk
1) Bilipeptal forte	0,686	0,015	2,22%	0,623	0,021	3,34%
	0,605	0,022	3,60%	0,638	0,041	6,39%
2) Combiase spezial	0,783	0,057	7,25%	0,800	0,036	4,50%
	0,758	0,016	2,12%	0,780	0,039	5,01%
3) Combizym compositum	0,803	0,045	5,60%	0,770	0,036	4,68%
	0,786	0,006	0,73%	0,786	0,032	4,12%
4) Cotazym Kapseln +)	0,810	0,030	3,70%	0,843	0,035	4,16%
	0,813	0,025	3,09%	0,822	0,031	3,74%
5) Enzymase	0,540	0,036	6,68%	0,517	0,025	4,87%
	0,493	0,021	4,22%	0,517	0,032	6,12%
6) Enzym gallo sanol	0,715	0,006	0,89%	0,740	0,040	5,40%
	0,683	0,032	4,70%	0,713	0,036	5,01%
7) Enzypan plus	0,779	0,040	5,19%	0,775	0,043	5,53%
	0,720	0,046	6,36%	0,758	0,047	6,19%
8) Femkalon +)	0,973	0,035	3,60%	0,967	0,021	2,15%
	0,940	0,020	2,13%	0,960	0,027	2,85%
9) fermento duodenal	1,095	0,090	8,23%	1,103	0,065	5,89%
	1,057	0,055	5,21%	1,085	0,066	6,06%
10) fermento duodenal für Kinder +)	0,677	0,015	2,26%	0,647	0,040	6,24%
	0,613	0,042	6,78%	0,646	0,041	6,30%
11) fermento sanol	1,000	0,035	3,50%	0,647	0,040	6,24%
	0,983	0,015	1,55%	1,010	0,044	4,32%
12) Festal	0,673	0,025	3,74%	0,645	0,035	5,43%
	0,685	0,015	2,19%	0,668	0,029	4,34%
13) Gillazym Sandoz	0,757	0,050	6,65%	0,713	0,021	2,91%
	0,697	0,015	2,19%	0,722	0,039	5,40%
14) Helopanzym	0,457	0,015	3,34%	0,477	0,027	6,00%
	0,485	0,023	4,72%	0,473	0,023	4,91%
15) Lipazym	0,567	0,015	2,69%	0,563	0,045	7,95%
	0,532	0,008	1,34%	0,554	0,029	5,30%
16) Nutrizym Merck	0,950	0,036	3,79%	1,030	0,051	4,99%
	1,020	0,020	1,96%	1,000	0,049	4,94%
17) Ozym	0,710	0,026	3,73%	0,813	0,031	3,76%
	0,690	0,020	2,89%	0,738	0,061	8,35%
18) Pankrease	0,845	0,014	1,61%	0,880	0,026	3,01%
	0,843	0,040	4,78%	0,856	0,031	3,60%
19) Pankreatan	1,030	0,059	5,67%	0,987	0,006	0,59%
	0,953	0,032	3,37%	0,990	0,048	4,88%
20) Pankreatan forte +)	0,623	0,021	3,34%	0,590	0,010	1,69%
	0,603	0,025	4,17%	0,605	0,022	3,70%
21) Pankreon compositum	0,812	0,045	5,52%	0,793	0,032	4,05%
	0,845	0,025	2,96%	0,817	0,038	4,63%
22) Pankreon forte +)	0,560	0,010	1,79%	0,560	0,020	3,57%
	0,530	0,026	4,99%	0,550	0,023	4,17%
23) Pankreon Granulat	0,467	0,031	6,55%	0,423	0,021	4,91%
	0,440	0,036	8,19%	0,443	0,032	7,22%
24) Pankreon Tabletten	0,762	0,027	3,62%	0,830	0,040	4,80%
	0,770	0,036	4,68%	0,787	0,044	5,62%
25) Panpur Dragées	0,860	0,020	2,33%	0,883	0,042	4,70%
	0,877	0,015	1,74%	0,873	0,026	3,03%
26) Panzynorm Pulver	0,929	0,045	4,86%	0,938	0,054	5,76%
	0,925	0,053	5,72%	0,931	0,044	4,77%
27) Viokase Tabletten	1,020	0,026	2,59%	1,000	0,032	3,19%
	0,980	0,035	3,68%	1,000	0,033	3,26%

+) : Diese Medikamente mußten in einer Konzentration von 0,008 % (w/v) bestimmt werden um in einen günstigen Meßbereich zu kommen.

Tabelle 10 (Legende siehe Seite 43)

Amylase

Medikament	U Tablette	U 100mg Tabl.	U 100mg Prot.	mg Tabl. 1000 U
1) Bilipeptal forte	15514,83	2290,01	713,15	43,67
2) Combiase spezial	15483,00	2824,85	875,71	35,40
3) Combizym compositum	16691,78	2847,45	1059,83	35,12
4) Cotazym Kapseln	27230,01	6079,08	2658,92	16,45
5) Enzymase	6491,48	1834,22	2056,07	54,52
6) Enzym gallo sanol	19064,78	2572,49	812,77	38,87
7) Enzypan plus	15961,94	2741,99	1349,80	36,47
8) Femkalon	39049,21	7118,62	2491,64	14,05
9) fermento duodenal	22720,38	3973,62	1689,03	25,17
10) fermento duodenal für Kinder	13629,08	4753,28	3090,15	21,03
11) fermento sanol	50798,91	3691,14	1095,65	27,09
12) Festal	8076,98	2403,00	2213,93	41,61
13) Gillazym Sandoz	20192,53	2606,40	1025,29	38,37
14) Helopanzym	4747,01	1668,54	517,25	59,93
15) Lipazym	12080,58	1973,63	695,60	50,67
16) Nutrizym Merck	20240,24	3653,47	1318,94	27,37
17) Ozym	24773,26	2666,66	1020,61	37,50
18) Pankrease	12667,71	3111,10	1438,13	32,14
19) Pankreatan	13378,49	3615,81	1839,55	27,66
20) Pankreatan forte	17516,33	2165,72	432,03	46,17
21) Pankreon compositum	9026,02	2964,21	2875,36	33,74
22) Pankreon forte	38326,44	4030,12	904,92	24,81
23) Pankreon Granulat	7777,76	1555,55	841,34	64,29
24) Pankreon Tabletten	7638,41	2851,22	2245,59	35,07
25) Panpur Dragées	31132,17	3175,13	749,10	31,49
26) Panzynorm Pulver	16967,93	3393,59	1649,54	29,47
27) Viokase Tabletten	13209,49	3653,47	2132,04	27,37

Tabelle 11 (Legende siehe Seite 43)

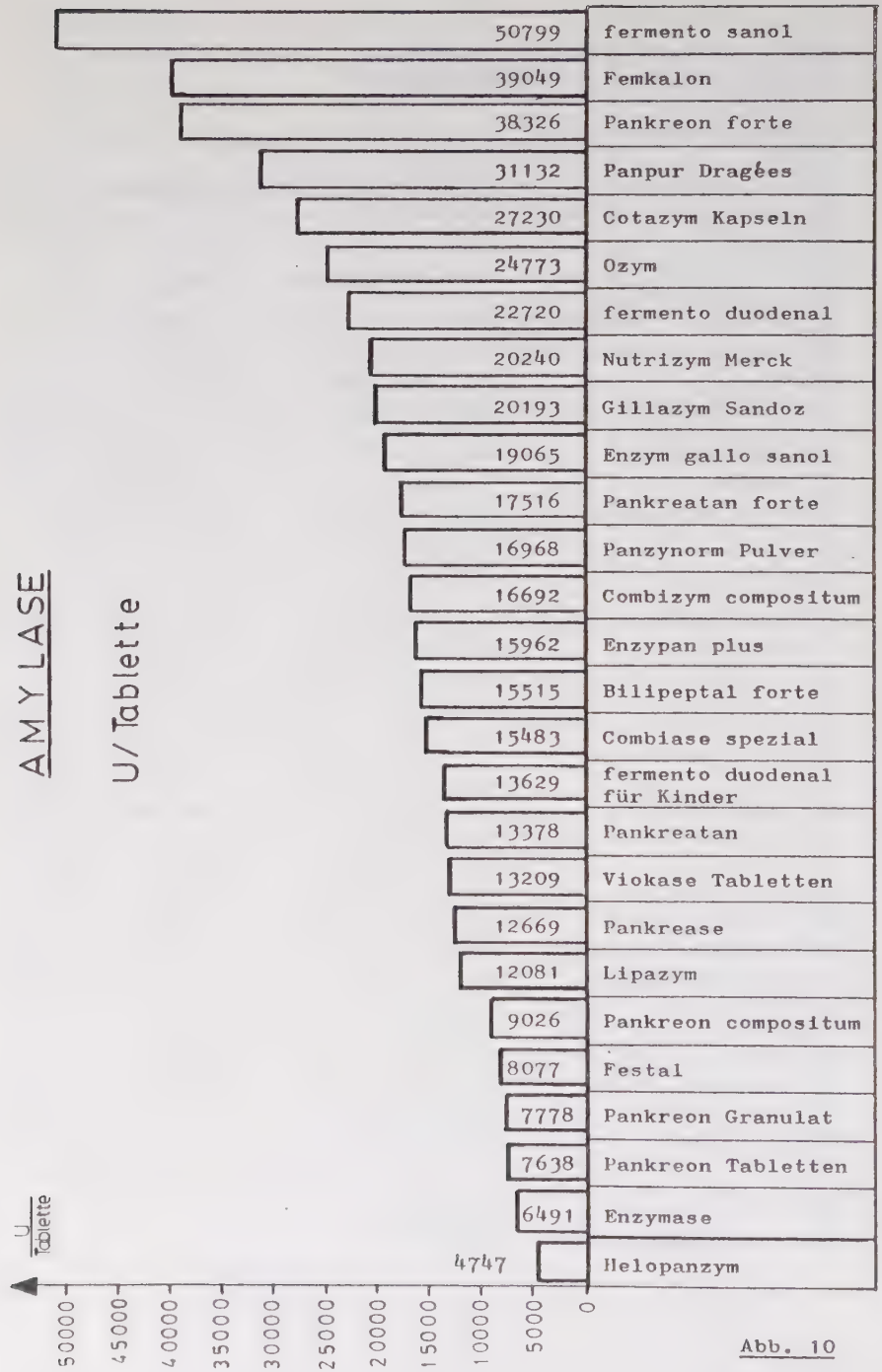
AMYLASE
U/Tablette
50799 fermento sanol
39049 Femkalon
38326 Pankreon forte
31132 Panpur Dragées
27230 Cotazym Kapseln
24773 Ozym
22720 fermento duodenal
20240 Nutrizym Merck
20193 Gillazym Sandoz
19065 Enzym gallo sanol
17516 Pankreatan forte
16968 Panzynorm Pulver
16692 Combizym compositum
15962 Enzypan plus
15515 Bilipeptal forte
15483 Combiase spezial
13629 fermento duodenal für Kinder
13378 Pankreatan
13209 Viokase Tabletten
12669 Pankrease
12081 Lipazym
9026 Pankreon compositum
8077 Festal
7778 Pankreon Granulat
7638 Pankreon Tabletten
6491 Enzymase
4747 Helopanzym
U/Tablette
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0

Abb. 10

Abb. 11 (Seite 48):
Graphische Darstellung der ermittelten amyloklastischen Aktivität, bezogen auf 100 mg Tabletteneinwaage.

Abb. 12 (Seite 49):
Graphische Darstellung der bestimmten Enzymeinheiten (U), bezogen auf 100 mg Protein.

Abb. 13 (Seite 50):
Die Abbildung zeigt diejenige Tabletteneinwaage in mg, die 1000 U enthält.

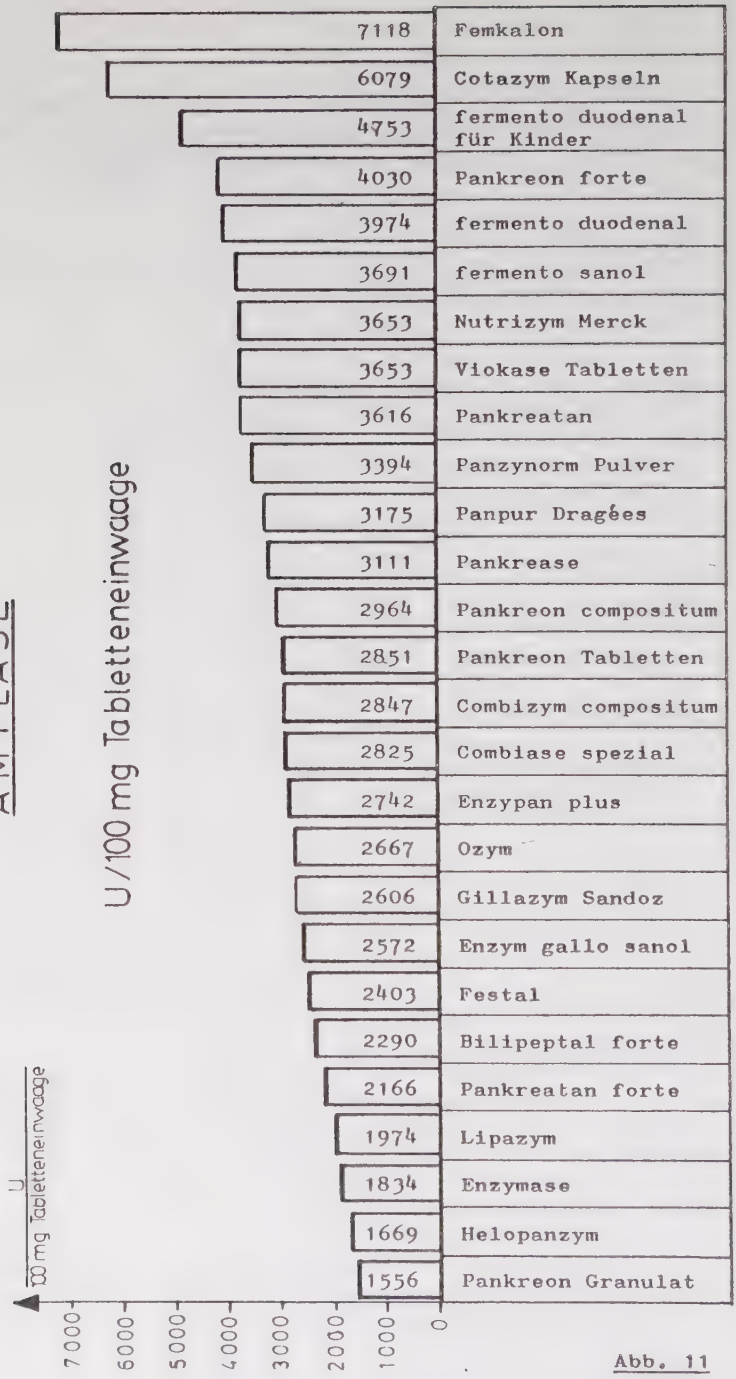
AMYLASE
U/100 mg Tabletteneinwaage
U/100 mg Tabletteneinwaage
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
7118 Femkalon
6079 Cotazym Kapseln
4753 fermento duodenal für Kinder
4030 Pankreon forte
3974 fermento duodenal
3691 fermento sanol
3653 Nutrizym Merck
3653 Viokase Tabletten
3616 Pankreatan
3394 Panzynorm Pulver
3175 Panpur Dragées
3111 Pankrease
2964 Pankreon compositum
2851 Pankreon Tabletten
2847 Combizym compositum
2825 Combiase spezial
2742 Enzypan plus
2667 Ozym
2606 Gillazym Sandoz
2572 Enzym gallo sanol
2403 Festal
2290 Bilipeptal forte
2166 Pankreatan forte
1974 Lipazym
1834 Enzymase
1669 Helopanzym
1556 Pankreon Granulat

Abb. 11

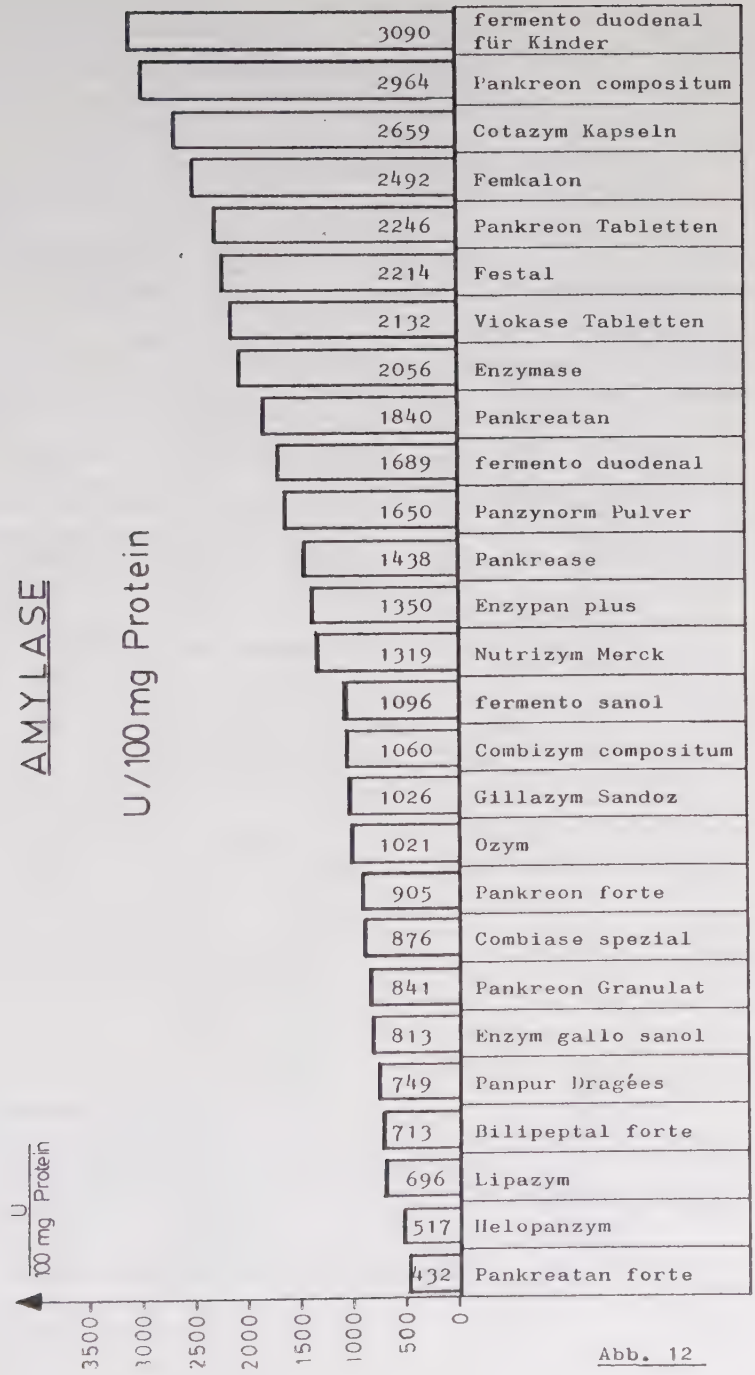
AMYLASE
U/100 mg Protein
U / 100 mg Protein
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
3090 fermento duodenal für Kinder
2964 Pankreon compositum
2659 Cotazym Kapseln
2492 Femkalon
2246 Pankreon Tabletten
2214 Festal
2132 Viokase Tabletten
2056 Enzymase
1840 Pankreatan
1689 fermento duodenal
1650 Panzynorm Pulver
1438 Pankrease
1350 Enzypan plus
1319 Nutrizym Merck
1096 fermento sanol
1060 Combizym compositum
1026 Gillazym Sandoz
1021 Ozym
905 Pankreon forte
876 Combiase spezial
841 Pankreon Granulat
813 Enzym gallo sanol
749 Panpur Dragées
713 Bilipeptal forte
696 Lipazym
517 Helopanzym
432 Pankreatan forte

Abb. 12

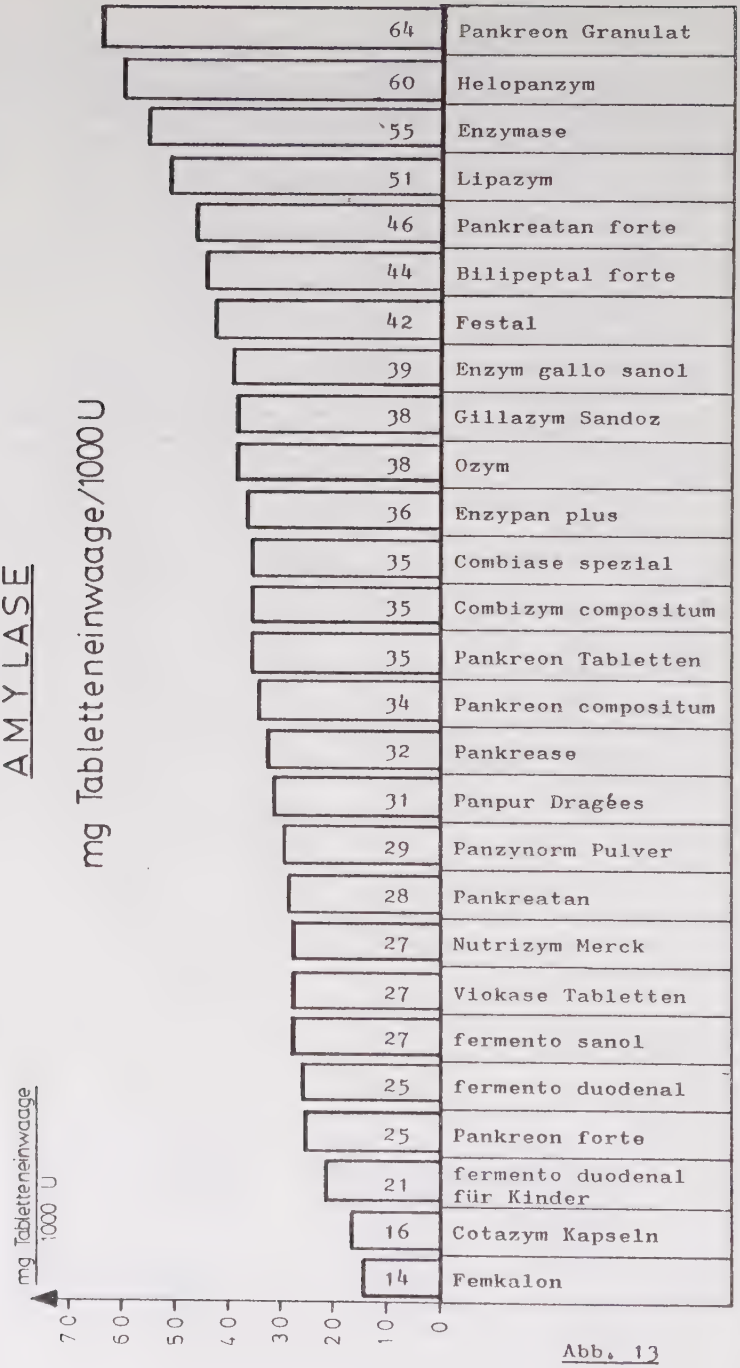
AMYLASE
mg Tabletteneinwaage/1000 U
mg Tabletteneinwaage / 1000 U
70
60
50
40
30
20
10
0
64 Pankreon Granulat
60 Helopanzym
55 Enzymase
51 Lipazym
46 Pankreatan forte
44 Bilipeptal forte
42 Festal
39 Enzym gallo sanol
38 Gillazym Sandoz
38 Ozym
36 Enzypan plus
35 Combiase spezial
35 Combizym compositum
35 Pankreon Tabletten
34 Pankreon compositum
32 Pankrease
31 Panpur Dragées
29 Panzynorm Pulver
28 Pankreatan
27 Nutrizym Merck
27 Viokase Tabletten
27 fermento sanol
25 fermento duodenal
25 Pankreon forte
21 fermento duodenal für Kinder
16 Cotazym Kapseln
14 Femkalon

Abb. 13

3.3.4. Lipolytische Aktivität

3.3.4.1. Berechnung aus einer 0,01 %igen Lösung

$$\text{Aktivität (U)} = \frac{(\Delta E + 0{,}04)}{1{,}85} \cdot \frac{\text{Gewicht in mg}}{0{,}01} \cdot \frac{1}{10}$$

Erklärung:

$\frac{(\Delta E + 0{,}04)}{1{,}85}$ = Einsetzen der gemessenen Extinktionsdifferenz in die Gleichung der Palmitinsäure-Eichkurve; dadurch erhält man diejenige Palmitinsäuremenge in µMol, die in 10 Minuten freigesetzt wurde.

$\frac{1}{10}$ = Deshalb muß durch 10 dividiert werden, um die freigesetzte Palmitinsäure pro min. zu erhalten.

$\frac{\text{Gewicht}}{0{,}01}$ = Umrechnung auf die Masse der gesamten Tablette.

3.3.4.2. Ergebnisse

Definition: 1 Einheit (U) entspricht derjenigen Enzymmenge, die 1 µMol Substrat pro Minute unter Standardbedingungen umsetzt.

Die in Tabelle 12 aufgelisteten Extinktionsdifferenzen sind aus einer 0,01 %igen Enzymlösung bestimmt worden. Tabelle 13 zeigt die berechneten Enzymaktivitäten in Units.

In Abbildung 14 ist die lipolytische Kapazität in Units pro Tablette aufgezeichnet, wobei die Präparate Pankreon forte, Panpur Dragées und Ozym die ersten drei Plätze einnehmen. Bemerkenswert ist, daß Cotazym Kapseln hier den 18. Rang belegen, während die proteolytische und amyloklastische Aktivitäten am höchsten sind.

Die letzten drei Plätze nehmen die Medikamente Helopanzym, Pankrease und Enzymase ein.

Wird die Aktivität auf 100 mg Tabletteneinwaage bezogen, so stehen Femkalon, fermento duodenal für Kinder und Pankreon forte an der Spitze. Die letzten drei Plätze

bilden Pankreon Granulat, fermento sanol und Enzymase. Betrachtet man die Aktivität auf 100 mg Protein bezogen, dann schneiden die Medikamente Ozym, Femkalon und fermento duodenal am besten ab. Das an letzter Stelle stehende Präparat fermento sanol zeigte nur ca. 20 % der Enzymaktivität von Ozym.
Aus Abbildung 17 sind wiederum diejenige Tabletteneinwaagen zu erkennen, die appliziert werden müssen, damit 1000 U eingenommen werden. Die Reihenfolge der Medikamente entspricht der in Abbildung 15.

Tab. 12 (Seite 53):
Extinktionsdifferenzen (ΔE), Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (Vk) der Lipasebestimmungen.

Tab. 13 (Seite 54):
Aus den gemessenen Extinktionsdifferenzen berechnete Enzymeinheiten (U).
Die Einheiten sind bezogen auf
1. die ganze Tablette, Dragée bzw. Kapsel, bei Pulver auf 500 mg.
2. 100 mg Tabletteneinwaage
3. 100 mg Protein
In der letzten Spalte ist angegeben, wieviel mg Tabletteneinwaage 1000 U enthalten.

Abb. 14 (Seite 55):
Graphische Darstellung der ermittelten Enzymeinheiten (U), bezogen auf eine ganze Tablette, Kapsel oder ein Dragée, bei Pulver oder Granulat auf 500 mg.

Abb. 15 (Seite 56):
Aufzeichnung der ermittelten lipolytischen Aktivität, bezogen auf 100 mg Tabletteneinwaage.

Abb. 16 (Seite 57):
Darstellung der ermittelten Lipaseeinheiten (U), bezogen auf 100 mg Protein.

Abb. 17 (Seite 58):
Tabletteneinwaagen, die 1000 U Lipase enthalten.

Lipase

Medikament	ΔE	s	Vk	ΔE	s	Vk
1) Bilipeptal forte	0,463	0,015	3,29%	0,417	0,015	3,67%
	0,462	0,013	2,73%	0,447	0,026	5,84%
2) Combiase spezial	0,433	0,025	5,81%	0,407	0,012	2,84%
	0,407	0,021	5,12%	0,416	0,022	5,26%
3) Combizym compositum	0,740	0,020	2,70%	0,778	0,016	2,06%
	0,703	0,010	1,48%	0,740	0,035	4,77%
4) Cotazym Kapseln	0,593	0,032	5,42%	0,600	0,035	5,77%
	0,587	0,032	5,48%	0,593	0,029	4,91%
5) Enzymase	0,142	0,008	5,39%	0,163	0,008	4,68%
	0,138	0,008	5,52%	0,148	0,013	9,13%
6) Enzym gallo sanol	0,657	0,045	6,87%	0,653	0,035	5,38%
	0,630	0,027	4,19%	0,647	0,034	5,34%
7) Enzypan plus	0,532	0,024	4,44%	0,513	0,018	3,42%
	0,515	0,022	4,23%	0,520	0,020	3,91%
8) Femkalon	1,387	0,031	2,20%	1,360	0,023	1,68%
	1,340	0,032	2,40%	1,362	0,033	2,43%
9) fermento duodenal	1,058	0,040	3,82%	0,960	0,036	3,76%
	0,940	0,025	2,67%	0,986	0,062	6,23%
10) fermento duodenal	1,193	0,021	1,74%	1,109	0,046	4,18%
für Kinder	1,113	0,049	4,43%	1,138	0,054	4,78%
11) fermento sanol	0,250	0,010	4,00%	0,245	0,013	5,39%
	0,258	0,010	4,03%	0,251	0,011	4,54%
12) Festal	0,653	0,025	3,85%	0,603	0,015	2,53%
	0,610	0,030	4,82%	0,622	0,032	5,07%
13) Gillazym Sandoz	0,637	0,021	3,27%	0,600	0,010	1,67%
	0,607	0,025	4,15%	0,615	0,024	3,91%
14) Helopanzym	0,590	0,026	4,48%	0,633	0,021	3,29%
	0,615	0,022	3,54%	0,613	0,028	4,49%
15) Lipazym	0,830	0,010	1,20%	0,801	0,032	3,98%
	0,807	0,042	5,16%	0,813	0,029	3,59%
16) Nutrizym Merck	0,763	0,015	2,00%	0,725	0,028	3,84%
	0,737	0,029	3,92%	0,742	0,027	3,69%
17) Ozym	0,927	0,035	4,25%	0,777	0,032	4,19%
	0,783	0,025	3,21%	0,796	0,036	4,49%
18) Pankrease	0,357	0,013	3,53%	0,360	0,013	3,67%
	0,343	0,013	3,66%	0,353	0,013	3,81%
19) Pankreatan	0,990	0,018	1,82%	0,980	0,040	4,14%
	0,987	0,057	5,76%	0,986	0,037	3,71%
20) Pankreatan forte	0,803	0,035	4,37%	0,823	0,025	3,06%
	0,817	0,025	3,08%	0,814	0,027	3,25%
21) Pankreon compositum	0,660	0,039	5,92%	0,687	0,032	4,68%
	0,708	0,019	2,67%	0,685	0,034	4,99%
22) Pankreon forte	1,040	0,046	4,41%	1,093	0,020	1,85%
	1,040	0,030	2,88%	1,058	0,040	3,74%
23) Pankreon Granulat	0,353	0,015	4,32%	0,320	0,015	4,69%
	0,328	0,016	4,89%	0,334	0,020	6,03%
24) Pankreon Tabletten	0,713	0,038	5,31%	0,678	0,033	4,91%
	0,658	0,020	3,07%	0,683	0,036	5,31%
25) Panpur Dragées	0,810	0,026	3,27%	0,797	0,032	4,04%
	0,790	0,020	2,52%	0,799	0,025	3,09%
26) Panzynorm Pulver	0,977	0,021	2,13%	0,980	0,046	4,68%
	0,930	0,030	3,23%	0,962	0,038	3,95%
27) Viokase Tabletten	0,622	0,027	4,43%	0,590	0,026	4,48%
	0,597	0,021	3,49%	0,603	0,026	4,33%

Tabelle 12 (Legende siehe Seite 52)

Lipase

Medikament	U / Tablette	U / 100 mg Tabl.	U / 100 mg Prot.	mg Tabl / 1000 U
1) Bilipeptal forte	1783,47	263,24	555,41	379,87
2) Combiase spezial	1350,99	246,49	418,81	405,70
3) Combizym compositum	2471,54	421,62	919,92	237,18
4) Cotazym Kapseln	1532,65	342,16	670,36	292,26
5) Enzymase	359,63	101,62	403,13	984,07
6) Enzym gallo sanol	2752,08	371,35	869,51	269,29
7) Enzypan plus	1762,12	302,70	867,44	330,36
8) Femkalon	4157,12	757,84	1455,06	131,95
9) fermento duodenal	3171,06	554,59	1347,89	180,31
10) fermento duodenal für Kinder	1825,77	636,76	1186,85	157,05
11) fermento sanol	2164,78	157,30	321,29	635,74
12) Festal	1202,76	357,84	1108,13	279,46
13) Gillazym Sandoz	2742,96	354,05	1079,01	282,44
14) Helopanzym	1005,21	352,97	691,56	283,31
15) Lipazym	2822,28	461,08	994,71	216,88
16) Nutrizym Merck	2341,77	422,70	845,40	236,57
17) Ozym	4198,08	451,89	1606,74	221,29
18) Pankrease	865,05	212,43	399,88	470,69
19) Pankreatan	2052,00	554,59	1043,96	180,31
20) Pankreatan forte	3733,60	461,62	744,79	216,63
21) Pankreon compositum	1193,31	391,89	1157,54	255,17
22) Pankreon forte	5644,31	593,51	1266,16	168,49
23) Pankreon Granulat	1010,81	202,16	546,71	494,65
24) Pankreon Tabletten	1046,98	390,81	824,59	255,88
25) Panpur Dragées	4446,70	453,14	1049,10	220,50
26) Panzynorm Pulver	2708,11	541,62	1316,34	184,63
27) Viokase Tabletten	1256,67	347,57	733,35	287,71

Tabelle 13 (Legende siehe Seite 52)

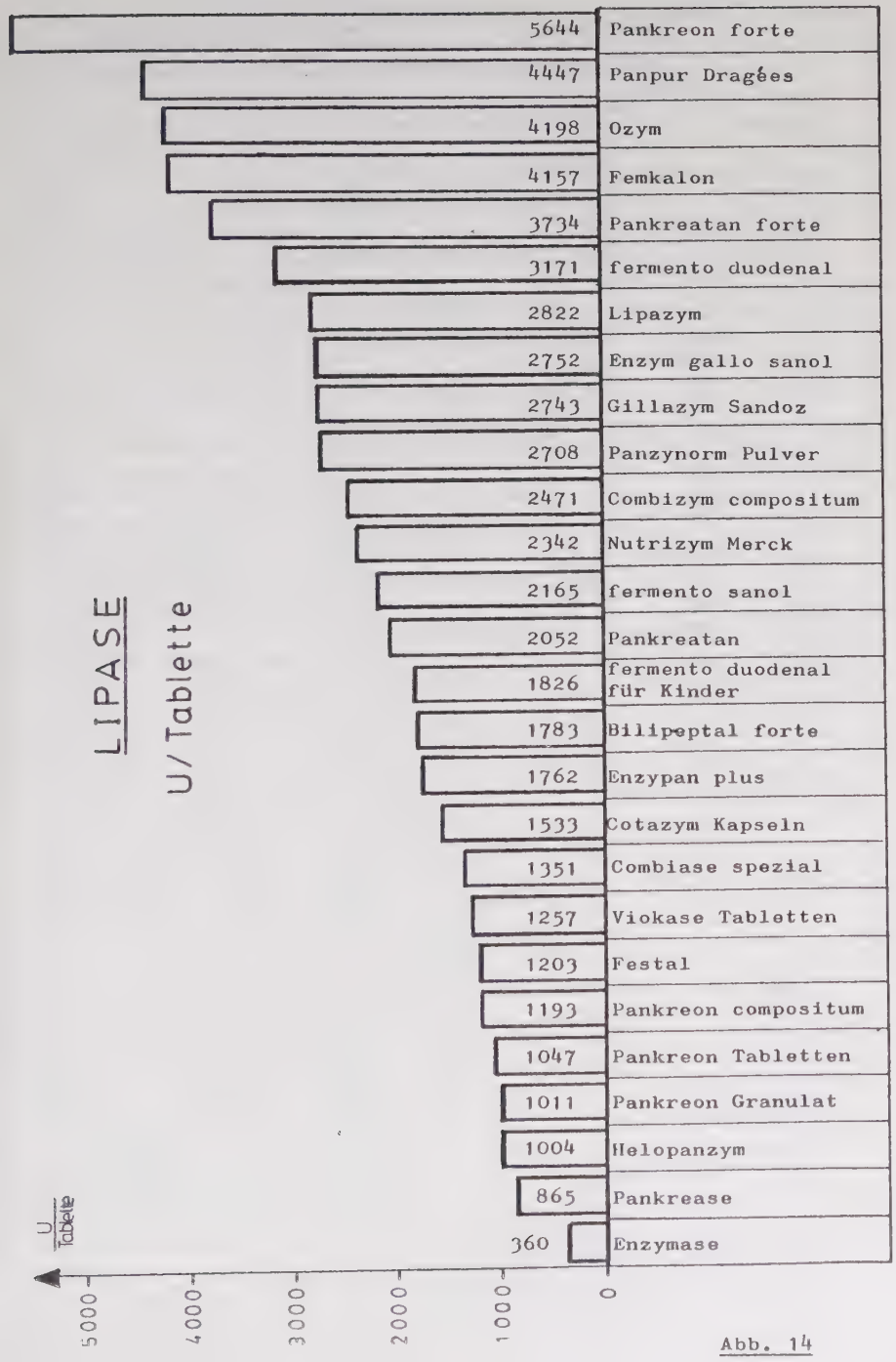
LIPASE
U/ Tablette
5644 Pankreon forte
4447 Panpur Dragées
4198 Ozym
4157 Femkalon
3734 Pankreatan forte
3171 fermento duodenal
2822 Lipazym
2752 Enzym gallo sanol
2743 Gillazym Sandoz
2708 Panzynorm Pulver
2471 Combizym compositum
2342 Nutrizym Merck
2165 fermento sanol
2052 Pankreatan
1826 fermento duodenal für Kinder
1783 Bilipeptal forte
1762 Enzypan plus
1533 Cotazym Kapseln
1351 Combiase spezial
1257 Viokase Tabletten
1203 Festal
1193 Pankreon compositum
1047 Pankreon Tabletten
1011 Pankreon Granulat
1004 Helopanzym
865 Pankrease
360 Enzymase
U/Tablette
5000
4000
3000
2000
1000
0

Abb. 14

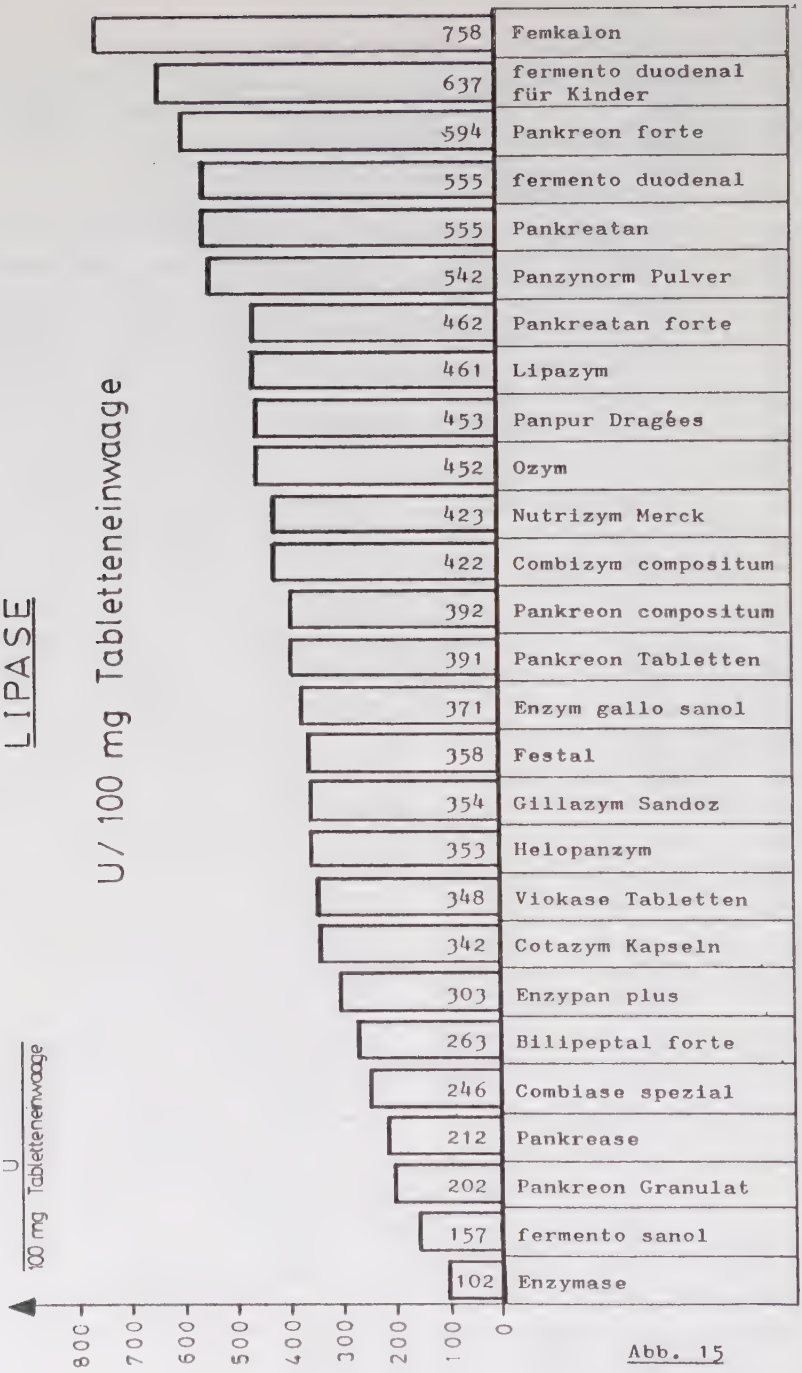
LIPASE
U / 100 mg Tabletteneinwaage
U / 100 mg Tabletteneinwaage
800
700
600
500
400
300
200
100
0
758 Femkalon
637 fermento duodenal für Kinder
594 Pankreon forte
555 fermento duodenal
555 Pankreatan
542 Panzynorm Pulver
462 Pankreatan forte
461 Lipazym
453 Panpur Dragées
452 Ozym
423 Nutrizym Merck
422 Combizym compositum
392 Pankreon compositum
391 Pankreon Tabletten
371 Enzym gallo sanol
358 Festal
354 Gillazym Sandoz
353 Helopanzym
348 Viokase Tabletten
342 Cotazym Kapseln
303 Enzypan plus
263 Bilipeptal forte
246 Combiase spezial
212 Pankrease
202 Pankreon Granulat
157 fermento sanol
102 Enzymase

Abb. 15

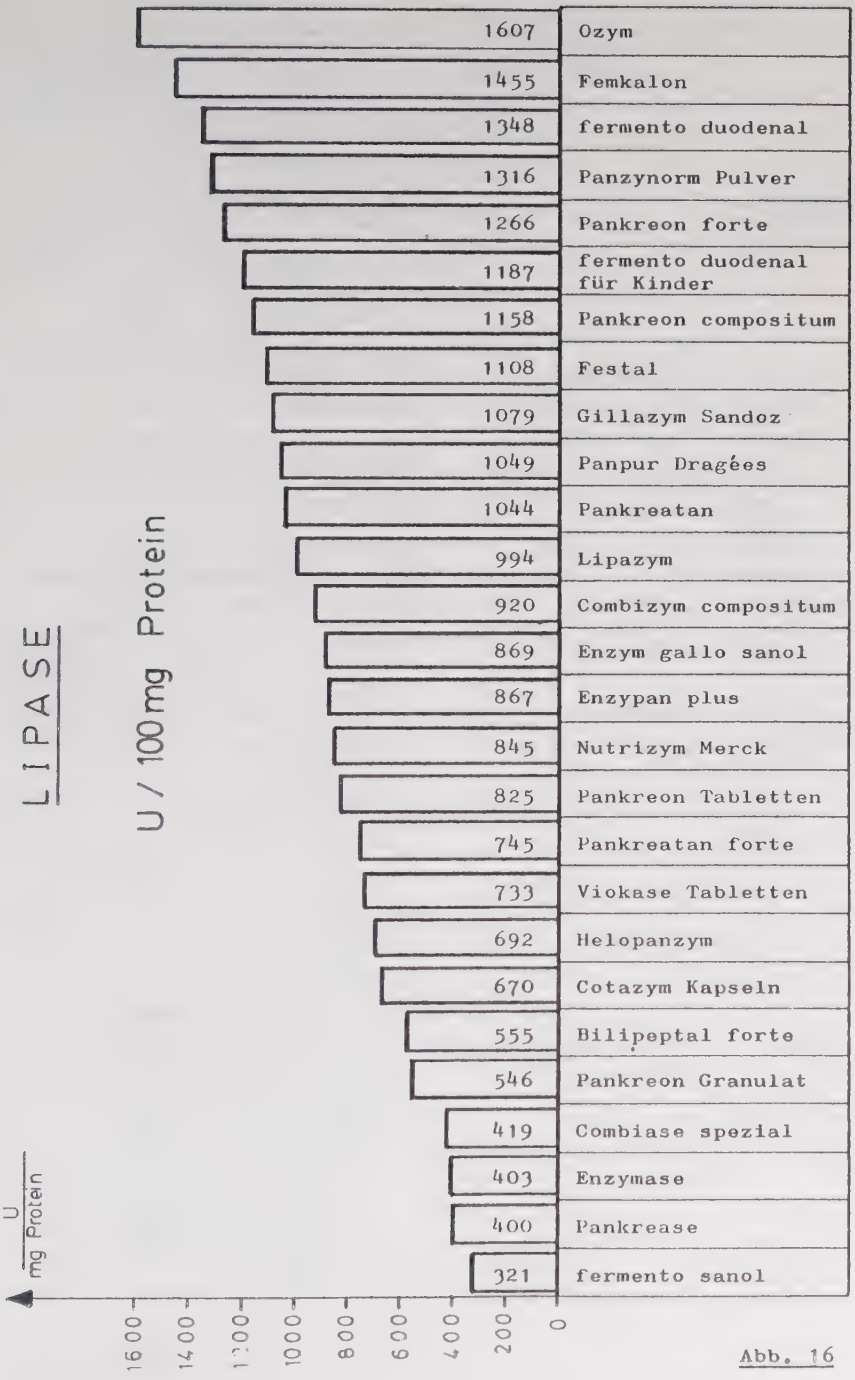
LIPASE
U / 100 mg Protein
U / mg Protein
1607 Ozym
1455 Femkalon
1348 fermento duodenal
1316 Panzynorm Pulver
1266 Pankreon forte
1187 fermento duodenal für Kinder
1158 Pankreon compositum
1108 Festal
1079 Gillazym Sandoz
1049 Panpur Dragées
1044 Pankreatan
994 Lipazym
920 Combizym compositum
869 Enzym gallo sanol
867 Enzypan plus
845 Nutrizym Merck
825 Pankreon Tabletten
745 Pankreatan forte
733 Viokase Tabletten
692 Helopanzym
670 Cotazym Kapseln
555 Bilipeptal forte
546 Pankreon Granulat
419 Combiase spezial
403 Enzymase
400 Pankrease
321 fermento sanol
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0

Abb. 16

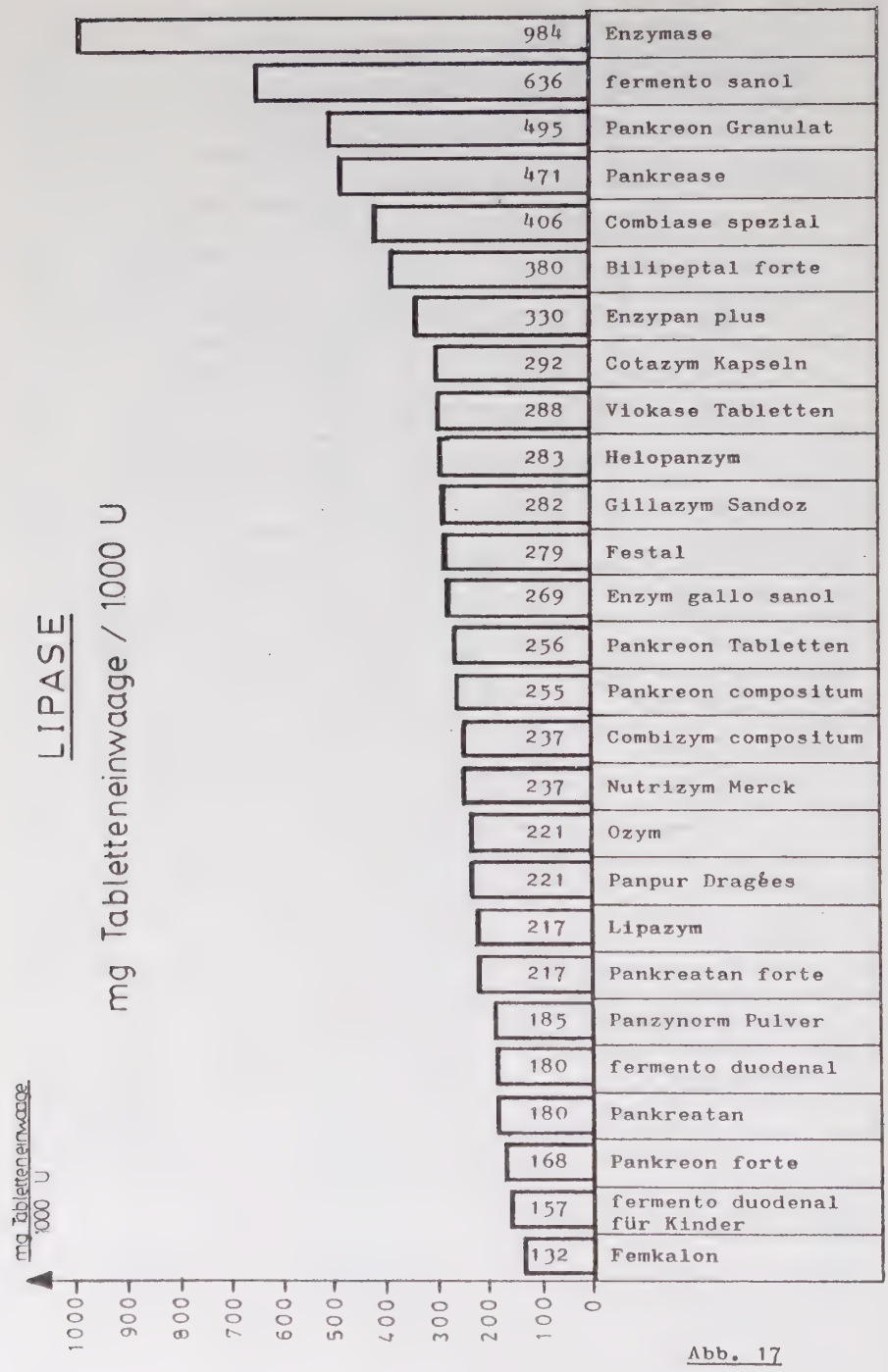
LIPASE
mg Tabletteneinwaage / 1000 U
mg Tabletteneinwaage / 1000 U
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
984 Enzymase
636 fermento sanol
495 Pankreon Granulat
471 Pankrease
406 Combiase spezial
380 Bilipeptal forte
330 Enzypan plus
292 Cotazym Kapseln
288 Viokase Tabletten
283 Helopanzym
282 Gillazym Sandoz
279 Festal
269 Enzym gallo sanol
256 Pankreon Tabletten
255 Pankreon compositum
237 Combizym compositum
237 Nutrizym Merck
221 Ozym
221 Panpur Dragées
217 Lipazym
217 Pankreatan forte
185 Panzynorm Pulver
180 fermento duodenal
180 Pankreatan
168 Pankreon forte
157 fermento duodenal für Kinder
132 Femkalon

Abb. 17

3.3.5. Proteinbestimmung nach Lowry (15)

3.3.5.1. Berechnung des Proteingehaltes in mg aus den gemessenen Extinktionsdifferenzen

$$\text{mg Prot./Tabl.} = \text{Gewicht (mg)} \cdot 3{,}125 \cdot 10^{-2} \cdot \frac{(\Delta E - 0{,}047)}{0{,}006}$$

3.3.5.2. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Proteinbestimmung sind aus Abbildung 18 zu ersehen. Im Gegensatz zu den Enzymbestimmungen differieren die einzelnen Medikamente relativ wenig. Die ersten beiden Plätze werden von Pankreatan forte mit 62 mg Protein/100 mg Tabletteneinwaage und Combiase spezial mit 59 mg Protein/100 mg Tabletteneinwaage eingenommen. Vom 3. bis 20. Platz bewegt sich der Proteingehalt lediglich zwischen 54 und 41 mg Protein/100 mg Tabletteneinwaage. Die letzte Gruppe, vom 21. bis 27. Rang, enthält zwischen 37 und 25 mg Protein/100 mg Tabletteneinwaage.
Zusammenfassend ist festzustellen, daß 18 der 27 untersuchten Medikamente etwa 50 mg Protein/100 mg Tabletteneinwaage enthalten, d.h. die Hälfte einer applizierten Medikamentenmenge besteht aus Protein.

Tab. 14 (Seite 60):
Extinktionsdifferenzen (ΔE), Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (Vk) der Proteinbestimmung nach Lowry (15).

Abb. 18 (Seite 61):
Graphische Darstellung des Proteingehalts, bezogen auf 100 mg Tabletteneinwaage.

Proteinbestimmung

Medikament	ΔE	s	Vk	ΔE	s	Vk
1) Bilipeptal forte	0,136	0,003	2,37%	0,141	0,003	1,88%
	0,136	0,002	1,13%	0,138	0,003	2,52%
2) Combiase spezial	0,158	0,004	2,22%	0,161	0,003	1,80%
	0,160	0,003	1,88%	0,160	0,003	1,85%
3) Combizym compositum	0,133	0,003	2,30%	0,138	0,003	1,51%
	0,135	0,003	1,87%	0,135	0,003	2,31%
4) Cotazym Kapseln	0,143	0,003	1,85%	0,148	0,002	1,40%
	0,144	0,002	1,06%	0,145	0,003	2,09%
5) Enzymase	0,095	0,003	3,09%	0,093	0,003	2,84%
	0,098	0,002	1,55%	0,095	0,003	3,31%
6) Enzym gallo sanol	0,126	0,002	1,66%	0,133	0,004	2,71%
	0,127	0,002	1,63%	0,129	0,004	3,16%
7) Enzypan plus	0,112	0,003	2,74%	0,115	0,003	2,79%
	0,115	0,002	1,80%	0,114	0,003	2,68%
8) Femkalon	0,146	0,003	1,81%	0,150	0,004	2,34%
	0,146	0,002	1,37%	0,147	0,003	2,20%
9) fermento duodenal	0,128	0,002	1,62%	0,124	0,001	0,81%
	0,126	0,003	2,38%	0,126	0,003	2,11%
10) fermento duodenal für Kinder	0,148	0,003	2,17%	0,154	0,003	2,09%
	0,148	0,003	2,03%	0,150	0,004	2,58%
11) fermento sanol	0,140	0,004	2,88%	0,145	0,003	2,21%
	0,139	0,003	2,16%	0,141	0,004	2,94%
12) Festal	0,112	0,003	2,36%	0,108	0,003	2,66%
	0,106	0,002	1,89%	0,109	0,003	3,14%
13) Gillazym Sandoz	0,109	0,004	3,70%	0,113	0,004	3,10%
	0,109	0,003	2,75%	0,110	0,004	3,36%
14) Helopanzym	0,143	0,003	1,85%	0,146	0,003	2,05%
	0,146	0,003	1,73%	0,145	0,003	1,90%
15) Lipazym	0,132	0,004	2,73%	0,139	0,003	1,90%
	0,136	0,002	1,53%	0,136	0,004	2,89%
16) Nutrizym Merck	0,142	0,003	2,27%	0,146	0,003	1,72%
	0,142	0,003	2,16%	0,143	0,003	2,41%
17) Ozym	0,142	0,003	2,27%	0,146	0,003	1,72%
	0,142	0,003	2,16%	0,143	0,003	2,41%
18) Pankrease	0,147	0,002	1,42%	0,153	0,003	1,73%
	0,148	0,002	1,40%	0,149	0,003	2,32%
19) Pankreatan	0,148	0,003	2,18%	0,150	0,004	2,35%
	0,148	0,003	2,03%	0,149	0,003	2,00%
20) Pankreatan forte	0,164	0,003	1,96%	0,168	0,002	1,19%
	0,166	0,003	1,51%	0,166	0,003	1,78%
21) Pankreon compositum	0,113	0,006	4,86%	0,112	0,003	2,74%
	0,110	0,003	2,28%	0,112	0,004	3,25%
22) Pankreon forte	0,137	0,003	1,84%	0,138	0,003	1,92%
	0,136	0,003	2,24%	0,137	0,003	1,82%
23) Pankreon Granulat	0,122	0,003	2,17%	0,116	0,003	2,63%
	0,117	0,003	2,26%	0,118	0,004	3,05%
24) Pankreon Tabletten	0,135	0,003	1,96%	0,140	0,002	1,09%
	0,138	0,003	1,93%	0,138	0,003	2,23%
25) Panpur Dragées	0,125	0,003	2,00%	0,132	0,003	2,31%
	0,132	0,005	3,52%	0,131	0,004	2,90%
26) Panzynorm Pulver	0,126	0,005	3,93%	0,123	0,003	2,62%
	0,128	0,002	1,62%	0,126	0,004	3,16%
27) Viokase Tabletten	0,141	0,004	2,84%	0,135	0,002	1,13%
	0,139	0,003	1,81%	0,138	0,004	2,55%

Tabelle 14 (Legende Seite 60)

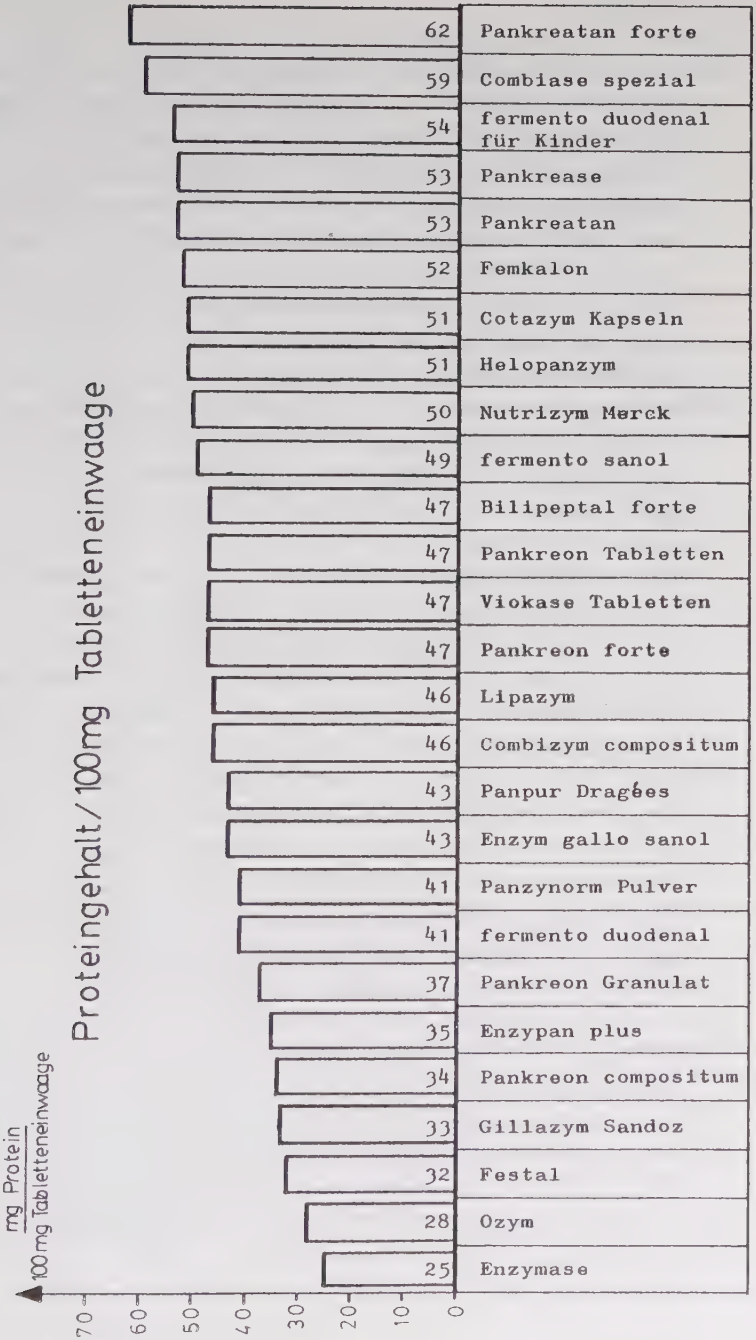
Proteingehalt / 100mg Tabletteneinwaage
mg Protein / 100 mg Tabletteneinwaage
70
60
50
40
30
20
10
0
62 Pankreatan forte
59 Combiase spezial
54 fermento duodenal für Kinder
53 Pankrease
53 Pankreatan
52 Femkalon
51 Cotazym Kapseln
51 Helopanzym
50 Nutrizym Merck
49 fermento sanol
47 Bilipeptal forte
47 Pankreon Tabletten
47 Viokase Tabletten
47 Pankreon forte
46 Lipazym
46 Combizym compositum
43 Panpur Dragées
43 Enzym gallo sanol
41 Panzynorm Pulver
41 fermento duodenal
37 Pankreon Granulat
35 Enzypan plus
34 Pankreon compositum
33 Gillazym Sandoz
32 Festal
28 Ozym
25 Enzymase

Abb. 18

4. Diskussion

In den letzten 30 Jahren sind zahlreiche Arbeiten zum Thema "Pankreasinsuffizienz und deren Therapie" publiziert worden (17, 3, 26, 4, 6, 19). In den 50-er Jahren und Anfang der 60-er Jahre wurden die Substitutionspräparate vor allem hinsichtlich ihrer proteolytischen Kapazität untersucht und miteinander verglichen (7, 18). Heute hält man es für notwendig, sowohl die proteolytische als auch die lipolytische und amyloklastische Aktivität zu betrachten, um eine Bewertung der Güte eines Präparates geben zu können (4,5,6,19,22,25). Balzer meinte dazu richtigerweise, daß für eine Substitution der Pankreasfermente Lipase und Amylase in gleichem Maße erforderlich sind, da die Proteasen eine fehlende Lipase- und Amylasesekretion niemals ersetzen können (3).

Sollen die einzelnen Publikationen miteinander verglichen werden, so ergeben sich große Schwierigkeiten, da jeder Autor eine andere Methodik benützt hat. Die schwierige Aufgabe, die Präparate in Lösung zu bringen, wurde von den einzelnen Autoren mit verschiedensten Verfahren angegangen. Die einzige Gemeinsamkeit bestand darin, daß die Dragiermasse bzw. die Kapselhülle entfernt und der Dragée-Kern bzw. der Kapselinhalt sehr fein zermörsert wurde. Das Pulver wurde gelöst in Glycerin (3), redestilliertem Wasser (4,5,6,7), Tris-Puffer (18) oder physiologischer Kochsalzlösung (24,13,19). Bergstermann nahm fein zerriebenes Enzympräparat, vermischte es mit Quarzstaub, das er der Trockeneinwaage zufügte (7). Andere zentrifugierten die Suspension (4,5,6,24). Dabei wurde allerdings in Kauf genommen, daß die Aktivität zu gering gemessen wurde. So hat Berndt darauf hingewiesen, daß bis zu 10% höhere Werte gemessen werden, wenn für die Bestimmung die Suspension und nicht der zentrifugierte Überstand benutzt wird (6). Neuere Untersuchungen benutzten physiologische Kochsalzlösung als Lösungsmittel (13,19); die vorliegende Arbeit hat sich dem angeschlossen.

Gleichzeitig wurde versucht, die Konzentration an Medikamentenpulver in den Enzymlösungen so klein wie nur möglich zu halten, um die schwerlöslichen Enzymproteine in Lösung zu bringen. Da die Endvolumina bei den Messungen relativ groß gegenüber den zugegebenen Volumina der Enzymlösungen waren, konnte die Suspension zu jeder Bestimmung der Aktivität auch ohne Zentrifugieren eingesetzt werden.

Folgendes Postulat von Bergstermann muß heute verworfen werden: "Der Eiweißabbau spielt bei der Fermentsubstitution wohl die wichtigste Rolle (7)." Dies trifft, wie oben bereits erwähnt, nach heutiger Meinung nicht zu, da alle 3 Komponenten, nämlich Amylase, Lipase und Proteasen für eine regelrechte Verdauung gleichermaßen von Bedeutung sein können. Die Proteasen liegen in einem sorgfältig hergestellten Präparat als Zymogene, also in ihrer inaktiven Vorstufe vor.
Die Hauptschwierigkeit bei der Bestimmung ihrer Aktivität besteht darin, die Gesamtheit der Zymogene nach der Aktivierung zu bestimmen, ohne durch die Proteolyse der aktiven Enzyme einen Aktivitätsverlust hinnehmen zu müssen. Zur Aktivierung der Proenzyme wurde in der Literatur einheitlich Enterokinase verwendet (4,5,6,7,19). Als Substrate zur Gesamtproteolysebestimmung wurden Hämoglobin nach Anson oder Casein nach Kunitz benutzt (1,14). Einzelne Autoren teilen die Gesamtproteolyse auf und bestimmen im einzelnen, welcher Anteil auf die Aktivität von Trypsin, Chymotrypsin, Carboxypeptidase A oder -B zurückzuführen ist (4,5,6,13,18,19).
Dazu wurden Inhibitoren oder spezifische synthetische Substrate benutzt. Allerdings ist die Bestimmung der proteolytischen Aktivität mit synthetischen Substraten nicht unproblematisch. Berndt meinte dazu, daß die Spaltung der synthetischen Substrate kein Maß für die Aktivität gegenüber natürlichen Substraten ist (6). So interessiert den Kliniker auch nicht, wieviel N^{α}-Benzoyl-DL-arginin-p-nitro-anilid-HCl z.B. von Trypsin gespalten wird, sondern wieviel natürliches Protein ein Medikament spalten kann, wenn es aufgenommen wird.

Hierzu meinen Nagel und Willig, daß das Ausmaß der Gesamtproteolyse für die Beurteilung der therapeutischen Brauchbarkeit von größerer Bedeutung zu sein scheint (18).
Die Fédération Internationale Pharmaceutique (F.I.P.) empfahl 1968 das natürliche Protein Casein als Substrat zur Bestimmung der proteolytischen Aktivität einzusetzen (11); vor der Bestimmung sollte eine Vorinkubation mit Enterokinase (90 min. im 35°C-Wasserbad) erfolgen.

Wie schon in der Einleitung zu dieser Arbeit gesagt, wurde u.a. das Ziel gesetzt, möglichst natürliche Substrate zur Aktivitätsbestimmung zu benutzen, um dem Kliniker für die tägliche Praxis brauchbare Information über die Enzymkapazität von Pankreasenzympräparaten in die Hand zu geben. Den Richtlinien der F.I.P. folgend wurde Casein als Substrat für die Proteasen verwendet. Zur Aktivierung der Proteasen wurde in den Vorversuchen beobachtet, daß die proteolytischen Enzyme nach 120 Minuten Vorinkubation im 35°C-Wasserbad nach Zugabe von 10 Vol% einer 0,05 %igen Enterokinaselösung voll aktiviert sind. Dies entspricht den Untersuchungsergebnissen von Berndt (6).
Die Proben ohne Enterokinasezusatz, also nur mit Vorinkubation im Wasserbad, waren selbst nach 7 Stunden nicht voll aktivierbar. Berndt meinte zwar, daß zur vollständigen Aktivierung häufig eine einfache Inkubation bei 25°C ausreiche; meistens wäre freies Trypsin vorhanden, das den autokatalytischen Aktivierungsprozeß in Gang setze. Dies konnte nach den Voruntersuchungen nicht bestätigt werden, da wie schon oben erwähnt, selbst 7 Stunden Vorinkubation nicht ausgereicht haben, die Proteasen ohne Enterokinasezusatz voll zu aktivieren. Dies spricht für die Güte der untersuchten Medikamente, denn es kann gesagt werden, je weniger aktivierte Enzyme bereits vorhanden sind, desto geringer ist die Gefahr einer Selbstverdauung. Willstätter schloß daraus auf die Art der Herstellung, denn die Proteasen liegen bei schonender Extraktion im wesentlichen als Trypsinogen und Chymotrypsinogen vor (27).

Als Substrat zur Bestimmung der Lipaseaktivität gibt es wiederum zwei Möglichkeiten, zum einen als natürliches Substrat eine Olivenölemulsion nach Fraser, zum anderen mehrere synthetische Substrate (z.B. o-Nitrophenyl-n-butyrat, Triacetin) einzusetzen (12). Letztere sind für die Pankreaslipase nicht spezifisch, da sie auch von unspezifischen Esterasen gespalten werden (5). Nach Berndt ist die Lipase ein durch organische Lösungsmittel leicht zu zerstörendes Enzym (6). Werden die Präparate durch Fällung mit organischen Lösungsmitteln in der Kälte aus Drüsenextrakten hergestellt, so wird die lipolytische Aktivität deutlich vermindert. Ein schonenderes aber auch kostspieligeres Verfahren ist die Einengung der Pankreasextrakte durch Lyophilisieren.
Die F.I.P. empfiehlt, die Lipaseaktivität mit einer Olivenölemulsion als Substrat zu bestimmen. Die freigesetzten Fettsäuren können mittels Titration mit 0,05 N NaOH oder aber wie in dieser Arbeit auf photometrischem Wege gemessen werden.

Zur Bestimmung der Amylase war es bisher üblich, Maltose als Substrat zu benutzen. Die Aktivität der Amylase wurde aus den freigesetzten reduzierenden Gruppen mit 3,5-Dinitrosalicylsäure oder aus dem nicht abgebauten Anteil des Substrates mittels der Jodstärke-Reaktion bestimmt. Beide Methoden entsprechen den Empfehlungen der F.I.P. Für die vorliegende Arbeit wurde 3,5-Dinitrosalicylsäure, die photometrisch bestimmt werden kann, gewählt.

Ein Vergleich der Enzymaktivitäten in den bisher vorliegenden Arbeiten zeigt, daß jeder Autor eine andere Möglichkeit findet, seine Ergebnisse darzustellen. Bergstermann z.B. wählte aus versuchstechnischen Gründen die Zunahme der Extinktion pro 10 mg Fermentpräparat ohne Berücksichtigung der Tablettengröße (7). Balzer ist einer völlig anderen Meinung:
"Zum Vergleich des Fermentgehaltes der verschiedenen Präparate wurde dieser jeweils auf eine Tablette bzw. ein Dragée bezogen. Die an sich aufschlußreiche Berechnung der Versuchsergebnisse auf eine Gewichtseinheit, z.B. 10 mg, wie sie Bergstermann durchgeführt hat, ist nach unserer Ansicht

nicht möglich, da die Präparate einen verschiedenen Aufbau haben (3)." Damit bringt er zum Ausdruck, daß die Medikamente Zusatzstoffe wie Kohle, Gallensäuren und sonstige enzymatisch unwirksame Substanzen in verschiedenen und unkontrollierbaren Mengen enthalten. Wird der Enzymgehalt dennoch auf die Gewichtseinheit bezogen, so ist ein genauer Vergleich der Präparate nicht möglich. Nagel und Willig beziehen die proteolytischen Aktivitäten auf µg abgespaltenes Tyrosin pro mg Substanz (Tablette bzw. Dragée-Kern) (18). Schön, Rässler et al. geben die Aktivitäten in mg Trypsin, Chymotrypsin, Diastase, Lipase pro 1 g Tablette, Preßling oder Pulver an (25). Berndt und Mitarbeiter sowie Graham berechnen die Meßergebnisse als Units (U) pro Medikamenteneinheit (6,13). Dabei wurde 1 Unit definiert als diejenige Enzymmenge, die 1 µMol Substrat pro Minute unter Standardbedingungen umsetzt.

Jeder Autor hat also seine eigene Art, die erhobenen Untersuchungsergebnisse über den Pankreasenzymgehalt darzustellen. Das hat zur Folge, daß man die Resultate nicht unmittelbar miteinander vergleichen kann. In der vorliegenden Arbeit wurde die proteolytische Aktivität in Kunitz-Einheiten ausgedrückt, nachdem auch die von Kunitz erarbeitete Methodik mit Casein als Substrat benutzt worden ist (14). Die Aktivität von Lipase und Amylase wurde in Units berechnet. Die gemessenen Aktivitäten wurden auf die Medikamenteneinheiten (Tablette, Dragée, Kapsel), bei Pulver sowie Granulat auf 500 mg bezogen, außerdem aber auch pro 100 mg Tablettengewicht und 100 mg Proteingehalt bestimmt. Dabei wurde der Proteingehalt hier erstmals im Rahmen einer solchen Untersuchung durchgeführt. Da alle Enzyme Proteine sind, kann man auf diese Weise die Menge der Zusatz- und Füllstoffe abschätzen. Wahrscheinlich kann man sogar soweit gehen zu sagen, daß Medikamente mit einer hohen Enzymaktivität pro 100 mg Protein schonend hergestellt und von enzymatisch inaktiven Proteinen gereinigt worden sind.

Aus den vielen genannten Gründen ist ein Vergleich der hier gewonnenen Ergebnisse mit früheren Arbeiten sehr schwierig. Hinzukommt, daß die Firmen bestrebt sind, die Qualität ihrer

Erzeugnisse ständig zu verbessern. Diejenigen Medikamente, die vor 10 Jahren oder noch längerer Zeit untersucht wurden, sind teilweise schon nicht mehr im Handel.
Stellen wir uns zunächst aber die Frage, welche der derzeitigen Pankreassubstitutionspräparate die besten sind. Von den 27 untersuchten Medikamenten wurden 3 (Viokase Tabletten, Cotazym Kapseln, Pankrease-Kapseln) in den USA hergestellt, so daß das Untersuchungsgut in 2 Gruppen, nämlich deutsche und amerikanische Präparate eingeteilt werden sollte.

Als erstes sollen die Pankreaspräparate hinsichtlich ihrer Enzymaktivität pro Medikamenteneinheit (Tablette, Dragée, Kapsel bzw. 500 mg Pulver oder Granulat) verglichen werden. Für den Kliniker ist ja auch vor allem von Interesse, welches Medikament die höchste digestive Kapazität hat.
Von den amerikanischen Präparaten zeigen die Cotazym-Kapseln eine sehr gute proteolytische Aktivität (4. Platz), während Pankrease-Kapseln und Viokase-Tabletten den 11. und 12. Platz belegen und somit im Mittelfeld plaziert sind. Auch die amyloklastische Kapazität der Cotazym-Kapseln ist hoch mit einem 5. Rang; dagegen nehmen die Viokase-Tabletten und die Pankrease-Kapseln eine bereits im letzten Drittel befindliche 19. und 20. Stelle ein. Dagegen ist die lipolytische Aktivität der 3 amerikanischen Medikamente im Vergleich zu den deutschen Präparaten als schlecht zu bezeichnen (Cotazym: 18., Viokase: 20, und Pankrease: 26. Platz), wobei die Cotazym-Kapseln wiederum etwas besser abschneiden als die beiden anderen amerikanischen Präparate. Besonders auffällig ist bei o.g. 3 Medikamenten, daß nach 2 Stunden Vorinkubation ohne Enterokinasezusatz ca. 90 % der proteolytischen Enzyme aktiviert sind, was bei den deutschen Präparaten in der Mehrzahl nicht beobachtet werden konnte.
Zusammenfassend und vergleichend kann man also über die geprüften amerikanischen Präparate sagen, daß sie wenig schonend hergestellt wurden, so daß die Lipase wahrscheinlich partiell inaktiviert und gleichzeitig ein großer Teil der proteolytischen Proenzyme aktiviert wurde. Diese Konstellation, weitgehende Aktivierung der Proteasen und geringe lipolytische

Kapazität, kann nur in diesem Sinne befriedigend erklärt werden. Da die Lipase das wichtigste Enzym ist, um Fettstühlen bei einer Pankreasinsuffizienz entgegenzuwirken, sind diese 3 Medikamente bei dem Leitsymptom "Fettstühle" nicht indiziert. Dagegen stellen jene Krankheitsbilder eine Indikation dar, die mit einem Enterokinasemangel einhergehen, da in diesen Präparaten die proteolytischen Enzyme schon weitgehend aktiviert sind. Damit stimmen unsere Untersuchungsergebnisse mit früheren überein, in denen festgestellt wurde, daß Cotazym mit Enterokinase nur wenig aktiviert werden kann (7). Während Nagel und Willig den Cotazym-Kapseln eine sehr schlechte proteolytische Aktivität bescheinigten, wurden von Pairent und Graham die Medikamente Cotazym und Viokase als beste hinsichtlich ihrer proteolytischen, amyloklastischen und lipolytischen Aktivität herausgestellt (18,19,13).

Die Gruppe der untersuchten deutschen Medikamente umfaßt 24 Präparate. Hier eine Aussage über das beste Medikament zu machen, ist schwierig und erst nach sorgfältigem Vergleich aller gemessenen Enzymaktivitäten (Proteasen, Lipase, Amylase) annähernd möglich. Folgende Medikamente lassen sich aufgrund eines einheitlich hohen Enzymbestandes herausheben: Pankreon forte (Proteasen: 2., Amylase:3., Lipase: 1. Platz), Panpur Dragées (Proteasen: 5., Amylase: 4., Lipase: 2. Stelle), Femkalon (Proteasen: 7., Amylase: 2., Lipase: 4. Rang), Ozym (Proteasen: 8., Amylase: 6., Lipase: 3. Platz), und fermento sanol (Proteasen: 1., Amylase: 1., Lipase: 13. Stelle). Mit Ausnahme von fermento sanol, das eine relativ niedrige lipolytische Kapazität besitzt, enthalten alle Medikamente dieser Gruppe relativ hohe Werte an proteolytischer, amyloklastischer und lipolytischer Aktivität in einem ausgewogenen Verhältnis. Das Präparat fermento sanol ist erwähnenswert wegen seiner großen amyloklastischen und proteolytischen Kapazität, während die lipolytische Aktivität mit nur noch 38 % der lipolytischen Aktivität von Pankreon forte gering ist. An diese Gruppe schließen sich Fermento duodenal, Pankreatan forte, Nutrizym Merck, Enzym gallo sanol und Gillazym Sandoz an. Diese Medikamente enthalten zwar deutlich geringere Enzymaktivi-

täten genüber den Präparaten der Spitzengruppe, die digestive Kapazität ist jedoch noch deutlich höher als bei den übrigen Pankreassubstitutionspräparaten.
Letztere teilen wir in zwei Gruppen ein, um diejenigen Präparate, die die geringste digestive Kapazität haben, abzutrennen und in einer eigenen Gruppe zusammenzufassen.
Vor diesen sind aber noch zu nennen: Fermento duodenal für Kinder, Pankreatan, Lipazym, Combizym compositum, Bilipeptal forte, Panzynorm Pulver, Combiase spezial und Enzypan plus.
Das Medikament Lipazym hat zwar eine gute lipolytische Aktivität (7.Platz), jedoch ist die proteolytische und amyloklastische Kapazität sehr gering im Vergleich zu den anderen Präparaten. Da die Wertung eines Medikamentes nur durch den Vergleich aller gemessenen Enzymaktivitäten abgegeben werden kann, muß Lipazym in diese Gruppe eingereiht werden.
Nach den Untersuchungen müssen folgende Präparate zuletzt genannt werden: Enzymase (Proteasen: 27., Amylase: 26., Lipase: 27. Platz), Helopanzym (Proteasen: 25., Amylase: 27., Lipase: 25. Stelle), Pankreon Granulat (Proteasen: 26., Amylase: 24., Lipase: 24. Rang), Festal (Proteasen: 24., Amylase: 23., Lipase: 21. Platz), Pankreon compositum (Proteasen: 21., Amylase: 22., Lipase: 22. Stelle) und Pankreon Tabletten (Proteasen: 20., Amylase: 25., Lipase: 23. Rang).
Die Enzymaktivitäten pro Medikamenteneinheit dieser Schlußgruppe sind einheitlich viel geringer im Vergleich zur Spitzengruppe.

Abschließend sollen hier nochmals alle Pankreassubstitutionspräparate herausgestellt werden, die über eine gute lipolytische Kapazität verfügen. Wie schon erwähnt, ist die Lipase ein labiles Enzym und somit ein Indikator für eine schonende Herstellungsweise eines Präparates.
Wird die Aktivität auf eine Medikamenteneinheit bezogen, dann zeichnen sich folgende Präparate durch eine große lipolytische Kapazität aus: Pankreon forte, Panpur Dragées, Ozym, Femkalon, Pankreatan forte, fermento duodenal und Lipazym.

Bei der bisherigen Interpretation, die vor allem praktischen Belangen genügen soll, blieb das Gewicht der einzelnen Tabletten, Kapseln und Dragées völlig unberücksichtigt. Betrachtet man Tabelle 5, dann stellt man fest, daß das Gewicht zwischen 268 mg (Pankreon Tabletten) und 1376 mg (fermento sanol) pro Medikamenteneinheit schwankt. Gleichzeitig erhält man einen verfälschten Eindruck von der Enzymreinheit der verschiedenen Medikamente. Deshalb sollen die Enzymaktivitäten hier zusätzlich noch auf den Proteingehalt von 100 mg bezogen werden. Diese Darstellungsweise gibt Aufschluß über die spezifischen Aktivitäten der Medikamente, und zwar völlig losgelöst und unabhängig vom absoluten Tablettengewicht. Hier zeigt sich dann der Reinheitsgrad der in den Medikamenten enthaltenen Enzyme und damit, welches Präparat von enzymatisch unwirksamen Proteinen gereinigt wurde. Dabei ergibt sich zum Teil eine völlig andere Rangordnung der Medikamente hinsichtlich ihrer Enzymaktivitäten.

Die proteolytische Kapazität der amerikanischen Präparate ist so gesehen vergleichsweise hoch. Cotazym Kapseln und Viokase Tabletten liegen hinsichtlich TU^{cas} pro 100 mg Protein an erster und zweiter Stelle. Bezüglich der amyloklastischen Aktivität befinden sich Cotazym Kapseln und Viokase Tabletten wiederum auf den ersten Plätzen (Platz 3 und 7). Pankrease-Kapseln liegen hier wie auch bei der proteolytischen Aktivität etwa im Mittelfeld. Betrachtet man die lipolytische Kapazität, dann stehen alle drei amerikanischen Präparate im letzten Drittel der Liste. Im Vergleich zur vorhergehenden Betrachtungsweise fällt nunmehr auf, daß die amerikanischen Präparate durch Bezug der Aktivität auf 100 mg Protein eine vergleichsweise sehr gute proteolytische und amyloklastische Kapazität aufweisen. Allerdings ist die lipolytische Aktivität auch hier wiederum gering, so daß sich an der oben vorgeschlagenen Indikation nichts ändert.
Die deutschen Präparate Femkalon, fermento duodenal für Kinder und fermento duodenal nehmen dagegen eine Spitzenstellung ein. Diese 3 Medikamente enthalten die größte digestive Kapazität pro 100 mg Protein, und zwar in einem ausgewogenen Verhältnis.

Das Präparat Ozym hat die beste lipolytische Aktivität pro 100 mg Protein; die proteolytische Aktivität ist ebenfalls als gut zu bezeichnen, aber die amyloklastische Aktivität ist vergleichsweise schwach. Pankreon compositum hat eine gute amyloklastische und lipolytische Aktivität, während die proteolytische Kapazität vergleichsweise gering ist.
An diese Spitzengruppe schließen sich Festal, Pankreon forte, Panzynorm-Pulver, Gillazym Sandoz, Pankreatan, Panpur Dragées und Lipazym an. Das Bindeglied zwischen dieser Gruppe und der Schlußgruppe wird von Enzym gallo sanol, Pankreatan forte, Helopanzym, Pankreon Tabletten, Nutrizym Merck, Enzypan plus und Combizym compositum gebildet. Die Schlußgruppe besteht aus 4 Präparaten, nämlich Combiase spezial, Bilipeptal forte, Enzymase und fermento sanol.

Ein Vergleich mit der Rangordnung nach Medikamenteneinheiten zeigt nur noch die beiden Präparate Femkalon und Ozym in der Spitzengruppe. Das Medikament fermento sanol ist, bezogen auf eine Medikamenteneinheit, der Spitzengruppe zuzurechnen, während es bei der Berechnung pro 100 mg Protein in der Schlußgruppe steht; das heißt, die Stärke dieses Präparates liegt in seinem Gewicht. Panpur Dragées und Pankreon forte gehören, bezogen auf eine Medikamenteneinheit, zu den besten Präparaten, während sie sich mit einer Platzierung in der Mitte begnügen müssen, wenn auf 100 mg Protein bezogen wird.

Ein wichtiger, jedoch von den Herstellerfirmen kaum beachteter Punkt ist die Angabe des Verfalldatums. Von den 27 untersuchten Medikamenten war es nur bei 5 Präparaten (Cotazym Kapseln, Gillazym Sandoz, Helopanzym, Pankrease und Viokase) angegeben. Da die Enzymaktivitäten mit zunehmender Lagerungsdauer bekanntlich abnehmen, wäre es wünschenswert, daß jede Herstellerfirma ihre Pankreassubstitutionspräparate mit einem Verfalldatum versieht, damit eine Kontrolle durch Apotheker, Ärzte, Pflegepersonal und Patienten möglich ist. Auf diese Weise könnte vermieden werden, daß unwirksam gewordene Enzympräparate von Patienten eingenommen werden.

Der Kliniker sollte sich darüberhinaus bei der Auswahl des für seinen Patienten günstigen Medikamentes bewußt sein, auf welche Enzyme er besonderen Wert legt. Unter den 27 untersuchten Medikamenten gibt es Präparate, die alle Enzyme (Amylase, Lipase und Proteasen) in einem ausgewogenen Verhältnis enthalten. Bei einem Großteil der Präparate ist jedoch nur ein Enzym in größerer Menge vorhanden. Andere wiederum enthalten Proteasen fast vollständig in aktiver Form. Somit stellen die Pankreassubstitutionspräparate eine breite Pallette dar, aus der nicht wahllos irgendein Präparat herausgegriffen werden sollte.

5. Zusammenfassung

Bei schwerer exkretorischer Pankreasinsuffizienz sind Verdauungsenzyme angezeigt, um der Maldigestion entgegenzuwirken. Von den deutschen Präparaten wurden 24, sowie 3 Enzympräparate aus den USA auf ihre digestive Kapazität untersucht.
Für die Untersuchungen wurden Methoden gewählt, die ausschließlich natürliche Substrate verwenden, damit den Enzymen Substrate angeboten werden, die den physiologischen Bedingungen möglichst nahe kommen. So wurde für die Bestimmung der proteolytischen Aktivität Casein, für die Bestimmung der amyloklastischen Aktivität Stärke und für die lipolytische Aktivität eine Olivenölemulsion als Substrat verwendet; das sind im übrigen jene Substrate, die von der Fédération Internationale Pharmaceutique empfohlen wurden. Die Bestimmung der proteolytischen Aktivität wurde sowohl mit als auch ohne Aktivierung durch Enterokinase vorgenommen.
Die gemessenen Enzymaktivitäten wurden auf eine Medikamenteneinheit (Tabletten, Dragée, Kapsel) bzw. auf 500 mg Pulver oder Granulat berechnet; diese Darstellungsweise bildete die Basis für den Vergleich der Medikamente.
Um Aussagen über die Reinheit und spezifische Aktivität der Präparate machen zu können, wurden die Enzymaktivitäten außerdem auf den Proteingehalt bezogen.

Die besten Medikamente, deren lipolytische, amyloklastische und proteolytische Aktivität gleichermaßen hoch ist, sind: Pankreon forte, Panpur Dragées, Femkalon, Ozym und fermento sanol. Dagegen enthalten folgende Medikamente vergleichsweise geringe Enzymaktivitäten: Enzymase, Helopanzym, Pankreon Granulat, Festal, Pankreon compositum und Pankreon Tabletten.

In zahlreichen Abbildungen werden die Einzelergebnisse pro Tablette, Dragée, Kapsel bzw. 500 mg Pulver sowie pro 100 mg Tabletteneinwaage und 100 mg Protein dargestellt. Schließlich wird auch diejenige Menge der Medikamenteneinheiten angegeben, die verabreicht werden muß, um 1000 Enzymeinheiten aufzunehmen.

Literatur

1) ANSON, M.L.: The estimation of pepsin, trypsin, pap
and cathepsin with hemoglobin.
J. gen. Physiol. 22 (1939), 79-89.

2) ANSON, M.L., MIRSKY, A.E.: The estimation of trypsin with hemoglo
J. gen. Physiol. 17 (1933), 151-164.

3) BALZER, E., WERNER, K.: Weitere Untersuchungen über die Eignun
von Pankreaspräparaten für die
Substitution von Pankreasfermenten.
Münch. med. Wschr. 96 (1954), 1386-138

4) BERNDT, W., MÜLLER-WIELAND, K.: Die digestive Potenz einiger Pankreas-
substitutionspräparate.
ErnährungsUmsch. 15 (1968), 304-305.

5) BERNDT, W.: Fermentaktivitäten und Eiweißbilanz de
Pankreas-Saftes von Katzen und Kaninch
nach Sekretin- und Pankreozymin-
Stimulierung und Durchblutungsstop.
Dissertation, 1965, Hamburg

6) BERNDT, W., STAUDT, U., MÜLLER-WIELAND, K.: Vergleichende Bewertung der Wirksamkei
von Pankreasfermentpräparaten.
Z. Gastroenterol. 7 (1969), 192-206
und 314-322.

7) BERGSTERMANN, H.: Vergleichende Untersuchungen über die
proteolytische Wirkung handelsüblicher
Fermentpräparate.
Münch. med. Wschr. 96 (1954), 560-563.

8) BORNSCHEIN, W., GEBHARDT, K.: Vergleich zwischen einer titrimetrisch
und einer photometrischen Methode zur
Bestimmung der Serumlipase.
Med. Klin. 71 (1976), 288-296.

9) DUNCOMBE, W.G.: The colorimetric micro-determination o
long-chain fatty acids.
Biochem. J. 88 (1963), 7-10.

10) DUNCOMBE, W.G.: The colorimetric micro-determination o
non-esterified fatty acids in plasma.
Clin. chim. Acta 9 (1964), 122-125.

11) FÉDÉRATION INTERNATIONALE PHARMACEUTIQUE: 4. Report, Enzyme
J. mond. pharm. 3 (1968), 337-353.

12) FRASER, G.P., NICOL, A.D.: Studies on human panreatic lipase.
Clin. chim. Acta 13 (1966), 552-562.

13) GRAHAM, Y.D.: Enzyme replacement therapy of exocrine pancreatic insufficiency in man.
New Eng. J. Med. 296 (1977), 1314-1317.

14) KUNITZ, M.: Crystalline soybean trypsin inhibitor
J. gen. Physiol. 30 (1947), 291-310.

15) LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent.
J. biol. Chem. 193 (1951), 265-275.

16) MARCHIS-MOUREN, G., SARDA, L., DESNUELLE, P.: Purification of hog pancreatic lipase.
Arch. Biochem. Biophys. 83 (1959), 309-31

17) MERTEN, R., RATZNER, H., Über Störungen der Ferment- und Säureproduktion im Magen, ihre diagnostische Erfassung und therapeutische Beeinflussu
Dtsch. Zschr. Verdauungskrkh.
10 (1950), 159-174.

18) NAGEL, W., WILLIG, F.: Zur Beurteilung der proteolytischen Aktivität von Pankreasenzym-Präparaten.
Münch. med. Wschr. 9 (1963), 482-483.

19) PAIRENT, W., HOWARD, J.M.: Pancreatic exocrine insufficiency. IV. The enzyme content of commercial pancreatic supplements.
Arch. Sug. 110 (1975), 739-741.

20) RICK, W.: Methoden der enzymatischen Analyse.
Herausgegeben von Bergmeyer, H.-U.,
3. Aufl. 1974, Verlag Chemie, Weinheim,
Trypsin: Bestimmung mit Hämoglobin und Casein als Substrat. Seite 1052-1059.

21) RICK, W., STEGBAUER, H.P.: Methoden der enzymatischen Analyse.
Herausgegeben von Bergmeyer, H.-U.,
3. Aufl. 1974, Verlag Chemie, Weinheim,
α-Amylase: Messung der reduzierenden Gruppen. Seite 918-923.

22) SCHMIDT-THOMÉ, J.: Zur Beurteilung der proteolytischen Aktivität von Pankreasenzym-Präparate Bemerkungen zu der Arbeit von Nagel, u. Willig, F.
Münch. med. Wschr. 9 (1963), 480-481.

23) SCHMIDT, H., STORK , DAHL, K. von: Methoden der enzymatischen Analyse. Herausgegeben von Bergmeyer, H.-U., 3. Aufl. 1974, Verlag Chemie, Weinhei Lipase: Photometrische Messung, Seite 848-853.

24) SCHÖN, H., RÄSSLER, B.: Über die Untersuchung der exkretorisc Pankreasfunktion.
Klin. Wschr. 39 (1961), 217-222.

25) SCHÖN, H., HENNING, N.: Zur Beurteilung der proteolytischen Aktivität von Pankreasenzym-Präparate Bemerkungen zu der Arbeit von Nagel, u. Willig, F.
Münch. med. Wschr. 9 (1963), 481.

26) SCHÖN, H., RÄSSLER, B., RICO-IRLES, J., HENNING, N.: Untersuchungen der Fermentaktivität einiger handelsüblicher Pankreasferme präparate.
Dtsch. med. Wschr. 87 (1962), 304-305

27) WILLSTÄTTER, R., WALD-SCHMITZ-LEITZ, E., DUNAITURRIA, S., KÜNSTNER, G.: Zur Kenntnis des Trypsins. XV. Abhand über Pankreasenzyme.
Hoppe-Seylers Z. physiolog. Chemie 161 (1926), 191-209.

Lebenslauf

Am 6. Mai 1957 wurde ich, Manfred Molitor, als Sohn des Mechanikers Josef Molitor und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Gaus, in Empfingen geboren.
Von 1964 bis 1967 besuchte ich die Grundschule in Empfingen. 1967 wechselte ich auf das Progymnasium Haigerloch und 1973 auf das Gymnasium Horb am Neckar, wo ich am 18. Mai 1976 die Allgemeine Hochschulreife erlangte.
Von Juli 1976 bis April 1977 leistete ich Grundwehrdienst bei der Bundeswehr.
Im Sommersemester 1977 begann ich mit dem Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen und legte dort 1979 das Physikum ab.
Im März 1980 bestand ich den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, im März 1982 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und im April 1983 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.
Die Approbation als Arzt wurde mir am 28. April 1983 erteilt.